

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS  
CARRERA DE FARMACIA



**EVALUACIÓN DE LA CALIDAD MICROBIOLÓGICA UTILIZANDO EL MÉTODO DE LÍMITE MICROBIANO DE LIMPIA COLON A BASE DE PRODUCTOS NATURALES MÁS COMERCIALIZADOS EN LA CIUDAD DE LEÓN, MAYO-NOVIEMBRE 2017.**

MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO QUÍMICO – FARMACÉUTICO.

AUTORES:

BR. YARELIA PATRICIA ROA MARTÍNEZ.

BR. JAIME ALEXANDER SABORÍO CARVAJAL.

TUTOR: MSc. GLORIA MARÍA HERRERA.

Febrero, 2018.

*“A la libertad por la Universidad”*

## **AGRADECIMIENTOS.**

Primeramente, a Dios y a la virgen santísima por brindarnos salud y dotarnos de sabiduría para permitirnos cumplir con esta meta.

A nuestros padres que son nuestros pilares y ejemplos a seguir compartiendo cada momento, cada paso que hemos dado para formarnos como persona y como profesional.

A nuestra maestra y tutora MSc. Gloria Herrera que ha sido un gran apoyo moral y profesional para la elaboración de nuestro trabajo monográfico, por creer y confiar en nosotros, brindarnos su valiosa amistad, por compartir momentos de risas, estrés y arduo trabajo en la elaboración de esta tesis.

A nuestros maestros que nos transmitieron sus conocimientos durante el recorrido de nuestra carrera.

Al departamento de farmacia industrial de la facultad de ciencias químicas de la UNAN-LEÓN por permitirnos desarrollar este estudio experimental en el laboratorio de control microbiológico.

Y a todas las personas que de una u otra manera colaboraron en el perfeccionamiento de nuestros estudios profesionales.

## **DEDICATORIA.**

Primeramente, a Dios por permitirnos llegar hasta este punto y habernos dado salud, ser el manantial de vida y darnos lo necesario para seguir adelante día a día para lograr nuestros Objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A nuestra maestra que como tutora ha desempeñado un gran apoyo, motivación y dedicación para la culminación de nuestro trabajo; por habernos transmitido los conocimientos obtenidos y habernos llevado paso a paso en el aprendizaje.

A nuestros padres y hermanos quienes han sido la guía y el camino para poder llegar a este punto de nuestra carrera, que con su ejemplo y dedicación y palabra de alientos nunca bajaron los brazos para que tampoco lo hagamos, aún cuando todo se nos complicaba.

A nuestros amigos por su amistad, apoyo, ánimo y compañía en las diferentes etapas de nuestras vidas.

## ÍNDICE.

INTRODUCCIÓN.....	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	6
OBJETIVOS.....	7
MARCO TEÓRICO .....	8
DISEÑO METODOLÓGICO .....	78
PROCEDIMIENTOS .....	81
RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	91
CONCLUSIÓN .....	103
RECOMENDACIONES .....	104
BIBLIOGRAFÍA .....	105
ANEXOS .....	110



## INTRODUCCIÓN.

La importancia de la medicina tradicional en la cultura de los pueblos, ha permanecido durante muchos años, jugando un papel importante como medio para tratar y curar enfermedades.

El conocimiento y la capacitación en el manejo adecuado de las plantas medicinales, como su forma de cultivo, secado, almacenamiento y procesamiento, han permitido no solo darle un uso prolongado sino garantizar su calidad. Por ello ha surgido la necesidad de buscar alternativas, que ayuden a entregar al consumidor, productos confiables y seguros.

Dentro de la industria farmacéutica existe una gran variedad de sustancias medicinales cuya finalidad es mantener o restablecer la salud del hombre. La garantía de calidad reviste una importancia especial, y esta fabricación debe seguir estrictamente métodos de preparación y procedimientos establecidos y validados cuidadosamente. Se sabe que los Fitofármacos pueden llegar a ser contaminados por varios elementos en diferentes puntos a lo largo de la línea de manufactura; la carga microbiana de los productos finales puede representar la contaminación de las materias primas, de los equipos con los cuales fueron elaborados, del ambiente, de las personas que operaron durante el proceso o de los envases dentro de los cuales fueron empacados. Algunos de estos contaminantes pueden ser patógenos, mientras que otros pueden desarrollarse en presencia de preservantes y afectar el producto. (Archila, 2009).

La mayoría de los Fitofármacos permiten un máximo de carga microbiana, pero debe contemplarse la ausencia de patógenos, al menos de *Escherichia coli* y *Salmonella* para productos de uso oral y de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*, si son para uso tópico. La cantidad y tipo de microorganismos permitidos se especifica en normas de calidad provenientes de farmacopeas extranjeras.

Es por ello, que el control de calidad de los Fitofármacos, deben ser sometidos a un riguroso análisis microbiológico que demuestre que cumplen con las especificaciones establecidas por



los organismos oficiales, para garantizar que los productos son adecuados para el uso al que están destinados.

A nivel mundial, el cáncer de colon ocupa el cuarto lugar respecto a los tipos de cáncer que causan mayor número anual de muertes. Le antecede el de pulmón, estómago y pulmón, de acuerdo con la Organización Mundial de la Salud. (OMS, 2003).

La Organización Panamericana de la Salud (OPS) confirma que cada año se producen 240,000 casos nuevos a nivel mundial, de ellos unos 96,000 pacientes mueren. A partir de 1980 la tasa de mortalidad por este tipo de cáncer ha disminuido, probablemente debido a que en la actualidad existen mejores tratamientos y, por lo general, es detectado en etapas tempranas. (Ann, Gómez, 2016).

Hoy en día el farmacéutico es el profesional responsable de la producción de fitofármacos de calidad, seguros y eficaces y para lograr este objetivo, el control microbiológico se considera un ensayo de gran importancia, ya que estos productos pueden presentar las condiciones necesarias para la multiplicación de microorganismos capaces de deteriorar al producto o, lo que es peor, afectar la salud del consumidor.

En nuestro país no hay suficiente información sobre la realización de estudios relacionados al control microbiológico de Fitofármacos que contengan principios activos de origen natural, por lo que podemos citar algunos estudios:

Mausy Lorena Torres Ramírez, en 2006, realizó una investigación titulada: “Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana”, este estudio es de tipo experimental, en el cual se trabajó con un total de 10g por cada una de las seis muestras analizadas , el objetivo de este estudio fue evaluar la calidad microbiológica y establecer si el proceso de esterilización con óxido de etileno, tenía un efecto eficaz sobre la materia prima, propuesta a evaluar. Los resultados obtenidos, a partir de las muestras analizadas en sus diferentes presentaciones, permitieron encontrar para esta



investigación datos significativos en relación con la presencia o ausencia de microorganismos patógenos antes y después del proceso de esterilización, como también en los recuentos para aerobios mesófilos, hongos y levaduras. Dentro de las muestras analizadas, antes del procedimiento, se encontraron algunos géneros de microorganismos como: *Citrobacter*, *Serratia*, *Klebsiella*, *Staphylococcus*, *Clostridium* y *Pseudomonas*. Algunos de ellos fueron reiterativos en muestras de Caléndula en Flor, Caléndula en Polvo, Fucus Entero y Sen en Polvo luego de la esterilización con EtO (óxido de etileno). Los recuentos para aerobios mesófilos, hongos y levaduras antes del procedimiento, se encontraron dentro de los límites permitidos (INVIMA, 2005) y después del proceso estos disminuyeron de manera relevante, encontrándose por debajo de la normatividad. (Torres, 2006).

Archila Jiménez, en el 2009, realizó una propuesta de un manual de procedimiento microbiológico para pruebas de límites microbianos en productos farmacéuticos no estériles logrando ser utilizado y aplicado a muestras o productos no estériles en laboratorios microbiológicos. En el presente trabajo se recopiló la información necesaria para obtener un buen funcionamiento y la acreditación de los mismos. (Archila, 2009). Lo primero fue conocer los laboratorios microbiológicos acreditados que realizan análisis en medicamentos; y mediante una entrevista se evaluó la importancia de la acreditación de los procedimientos de análisis microbiológico. Posteriormente se propone el manual de procedimientos normalizados de análisis microbiológico correspondiente a las pruebas de Límites microbianos para productos farmacéuticos no estériles, siguiendo los parámetros establecidos por la norma ISO/IEC 17025:05, por lo tanto, el manual cumple con dicho requisito. Además, se dan a conocer los requerimientos y lineamientos que se necesitan para poder obtener el reconocimiento como laboratorio acreditado. De esta manera se elaboró una guía de referencia para cualquier laboratorio que realice análisis microbiológicos que busque mejorar sus condiciones de trabajo.

En 2010, Armando Cáceres, redactó un artículo acerca del Control de calidad microbiológica de Fitofarmacéuticos, con el objetivo de comparar la calidad de estas drogas medicinales de origen vegetal que se han analizado en países como Guatemala “Control de calidad y sanitario en muestras de plantas medicinales distribuidas en la ciudad de Guatemala” (10 especies de



uso medicinal); Costa Rica “Análisis microbiológico de dos infusiones de hierbas medicinales en Costa Rica” (2 plantas medicinales); Portugal “Contaminación fúngica” (7 plantas medicinales); República Checa “Tamizaje en drogas vegetales” (31 drogas vegetales provenientes de Austria y Alemania); temas que fueron dados a conocer durante el VIII Curso Iberoamericano de Tecnología Fitofarmacéutica, así mismo, da a conocer los parámetros requeridos desde la recolección de la droga vegetal con las buenas prácticas agrícolas, el deshidratado vegetal, procesamiento post cosecha y pérdida de principios activos, la ecología microbiana, características de la materia prima, los riesgos de contaminación durante el proceso, factores determinantes, cepas y medios selectivos recomendados hasta el análisis microbiológico con la determinación de límites microbianos, técnicas de cuantificación de microorganismos, contaminación máxima aceptada y el control de materia vegetal físico-sanitaria según las farmacopeas internacionales. (Cáceres, 2010).

Otro estudio realizado en 2016, por Rigoberto Paniagua, Diana López y Adela Gutiérrez con el título: “Evaluación de la calidad microbiológica utilizando el método de Limite Microbiano, de cremas a base de productos naturales comercializados por centros naturistas en la Ciudad de León, Enero–Agosto 2016”, el estudio fue de tipo experimental, el cual evaluó 6 cremas de origen vegetal comercializados por centros naturistas de la ciudad de León, Nicaragua. Los patógenos encontrados en las muestras analizadas fueron *Staphylococcus aureus*, *Pseudomona aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Salmonella spp.*, lo que demuestra contaminación proveniente relacionados con la producción del producto. Debido a esto concluyen su investigación en base a la interpretación de los resultados: las muestras no cumplen con los parámetros de calidad microbiológica basados tanto en la USP 36 y la RTCA 71.03.45:07; por lo tanto, no son aptas para su utilización ya que causarían daño en la salud de las personas que se las administran. (Paniagua, López, Gutiérrez, 2016).

El retomar de nuevo su uso en la actualidad, ha generado la necesidad de tener más conocimientos sobre su actividad medicinal en el hombre, por tal razón la industria ha trabajado durante varios años con la comercialización y elaboración de Fitofármacos, es por esta razón, que el tema propuesto es poder evaluar la calidad microbiológica a través de la Prueba del Limite Microbiano de las muestras seleccionadas.



Dentro del grupo de las muestras seleccionadas se encuentran dos de origen extranjero y cuatro de origen nacional, con una totalidad de seis muestras: Digestit Fibra, Fibra Flat, Sábila y Menta, Súper Limpiador del Colon, Moring Fibra y Linaza + Moringa, que son las más importantes por la gran oferta que estas tienen en el mercado, ya que se ha podido demostrar a partir de ciertas investigaciones que son utilizadas para combatir el sobrepeso y estreñimiento. Por otro lado, si esta problemática no es tratada a tiempo, podría convertirse en un cáncer de colon. El cáncer de colon ocupa la tercera causa de muerte en Nicaragua, tanto en hombres como en mujeres. (Ann, Gómez, 2016).

El análisis o control microbiológico de los Fitofármacos, involucra la realización de dos tipos de ensayos:

- a) Recuentos microbianos, referidos básicamente al recuento total de microorganismos aerobios y el recuento total de mohos y levaduras.
- b) Investigación de microorganismos específicos: bacterias Gram negativas *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium*, y *Candida albicans*.

Según el RTCA, a los Fitofármacos se les realiza la prueba de Límite microbiano. (RTCA 11.03.56:09). La realización de este trabajo servirá para verificar si los Fitofármacos, cumplen con los parámetros de la calidad microbiológica para el uso de la población y si dichos productos son seguros para no provocar riesgo en la salud del hombre después de su consumo; así mismo permitirá concientizar a las autoridades de regulación de medicamentos de venta libre en el país, para que tengan conocimiento de la situación actual con el propósito de que tomen medidas y hagan cumplir las leyes y normas existentes con aquellos que incumplan y pongan en peligro la salud de la población.



## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) en los últimos veinte años, entró en un claro proceso no solo de revalorización de la medicina tradicional y cultural considerando su importancia y su contribución a favor de la salud integral, sino recuperando sus métodos terapéuticos, especialmente todos aquellos que se derivan de las plantas medicinales. (OMS, 2003).

Los productos naturales están teniendo una gran acogida en todas partes del mundo, debido a esta gran demanda se han creado muchos laboratorios que los fabrican, no obstante, no todos ellos elaboran productos de calidad, y muchos de ellos venden sus productos sin tener un registro sanitario; trabajos de investigación han revelado la presencia de contaminación en productos farmacéuticos de origen natural. Para obtener información acerca de la calidad microbiológica de un producto natural es necesario llevar a cabo análisis microbiológicos que permitan determinar la presencia de los mismos. Por eso, hay un gran número de técnicas para establecer esa calidad microbiológica. (Torres, 2006).

Mediante la evaluación microbiológica de los productos naturales limpia colon, puede estimarse la carga de microorganismos presentes en dichas muestras, así como determinar fallas en los sistemas de control de calidad. A nivel mundial, el cáncer de colon ocupa el cuarto lugar respecto a los tipos de cáncer que causan mayor número anual de muertes. Este tipo de cáncer ha disminuido, considerablemente debido a que en la actualidad existen mejores tratamientos.

Es por esta razón que este tipo de productos han tenido fluctuaciones en la producción debido a su gran demanda en el mercado, ante esta situación se plantea la siguiente interrogante:

¿Cómo es la Calidad Microbiológica utilizando el Método del Límite Microbiano en los limpia colon a base de Productos Naturales más comercializados en la Ciudad de León durante los meses Mayo-Noviembre 2017?



## OBJETIVOS.

- **OBJETIVO GENERAL.**

Evaluar la Calidad Microbiológica por el método de límite microbiano en limpia colon a bases de productos naturales más comercializados en la Ciudad de León, durante los meses de Mayo - Noviembre 2017.

- **OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

Conocer cuáles son los productos naturales utilizados para limpiar el colon.

Realizar Recuentos de: Bacterias Aerobias Mesófilas, Hongos y levaduras.

Determinar la Presencia/Ausencia de Microorganismos patógenos: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, en las muestras ya determinadas.



## **MARCO TEÓRICO.**

### **CONTROL MICROBIOLÓGICO.**

Para alcanzar la calidad microbiológica es necesario aplicar pasos ordenados a través de la cadena de producción. A lo largo de esta cadena se pueden presentar una serie de inconvenientes que pueden llevar a obtener un producto o productos que tengan características muy distintas a las esperadas, tanto para el consumidor final como para la empresa. Por esta razón, para garantizar la calidad es importante tener en cuenta que este se basara en el control de la presencia y la multiplicación de los microorganismos ya que factores como el sustrato proporcionado por el producto, el tipo de ambiente, temperatura, humedad relativa entre otros pueden ocasionar su presencia.

Los problemas microbiológicos suelen presentarse cuando no se alcanza el efecto deseado durante el proceso o por los sistemas de conservación que se tengan, y esto suele ser consecuencia de errores en la manipulación o procesado. La detección de dichos errores, su rápida corrección y prevención, son el principal objetivo de cualquier sistema de control microbiológico. (Torres, 2006).

### **IMPORTANCIA DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO.**

La Revolución Industrial supuso una profunda transformación en la economía y la sociedad. Los cambios originados más inmediatos se produjeron en los procesos de producción: qué, cómo y dónde se producía. Esto condujo a que se tuvieron que extremar las precauciones, para evitar microorganismos perjudiciales en los alimentos y su conservación como también en el agua. (Forsythe, 2002).



### **En todo Control Microbiológico de calidad se destacan dos aspectos:**

- Calidad Higiénica - Sanitaria: que no se distribuyan microorganismos patógenos para la salud.
- Calidad Comercial: presencia de microorganismos, que alteren el producto haciéndolo no comestible (aunque no sean patógenos). (Forsythe, 2002).

La pérdida de calidad de un producto, por tanto, puede ser debido a la presencia de microorganismos patógenos o de microorganismos que alteran el producto de tal manera que lo convierten en no apto para el consumo. Por esto que surge la necesidad de que todas las industrias, se capaciten y conozcan sobre la importancia que adquiere la calidad microbiológica de sus productos, a nivel de las materias primas que usan, que conozcan la calidad de todos los procesos de elaboración y por supuesto la calidad del producto final. (Forsythe, 2002).

La vida útil es muy importante y su valoración es extremadamente difícil, tanto por su subestimación como por la sobreestimación. La subestimación se refiere a una pérdida económica por disminuir el tiempo de permanencia en el mercado y la sobreestimación es la pérdida de seguridad higiénico-sanitaria (también pérdidas económicas, porque se deja de comprar el producto si este no cumple los requisitos adecuados). (Forsythe, 2002).

Los microorganismos en los productos de consumo pueden ser controlados por eliminación, inhibición de su multiplicación o por su destrucción total. Los métodos dependen de la sensibilidad de los microorganismos que se tienen que controlar y del propio producto. Se destacan la sensibilidad al calor o al frío de los microorganismos, a sus necesidades de agua, sensibilidad a los álcalis, a la radiación y a productos químicos. (Forsythe, 2002).

En Microbiología, el objetivo principal es garantizar productos saludables e inoctrinos y evitar el deterioro microbiológico de los mismos. Para obtener información acerca de la calidad microbiológica de un producto es necesario llevar a cabo análisis microbiológicos que



permitan determinar la presencia de los mismos. Por eso, hay un gran número de técnicas para establecer esa calidad microbiológica. (Forsythe, 2002).

### **Para ello es importante tener en cuenta los siguientes aspectos:**

- El significado de los grupos y especies de microorganismos presentes.
- Normas y especificaciones microbiológicas que deben cumplir los productos: es decir, disponer de patrones de comparación para saber si las cantidades de microorganismos presentes en un producto son normales o no. (Forsythe, 2002).

### **CALIDAD MICROBIOLÓGICA.**

La calidad microbiológica implica pasos ordenados dentro de la cadena de producción, donde se pueden presentar inconvenientes que dan como resultado, un producto con características distintas de las deseadas tanto para el consumidor como para la empresa. Así para garantizar la calidad es importante recordar que esta se basa en el control de la presencia y la multiplicación de los microorganismos. Un producto deberá acogerse a las normas vigentes e incorpore a lo largo del tiempo los requisitos exigidos por la ley. (Forsythe, 2002).

### **La calidad puede medirse desde distintos puntos de vista:**

- En términos organolépticos o sensoriales.
- En términos de su composición química.
- En términos físicos.
- En términos de carga microbiana, tanto cualitativa como cuantitativamente. (Forsythe, 2002).



**La calidad microbiológica, debido a su relación directa con la garantía en los productos de consumo, se resaltan los siguientes aspectos:**

- La protección del consumidor frente a las enfermedades de origen microbiano, transmitidas por estos productos.
- La prevención de las alteraciones de estos productos debida a la acción de estos microorganismos.

La calidad microbiológica, es un elemento fundamental durante la evaluación de un producto, ya que permite determinar los requisitos microbiológicos, tanto desde el punto de vista sanitario como comercial (Forsythe, 2002). Cuando la salud del consumidor se ve expuesta, debe ampliarse el control en las industrias, que permita adoptar técnicas adecuadas de manipulación, fabricación y distribución.

En la actualidad, aunque existen métodos y tecnologías que permiten entregar productos de buena calidad, se siguen presentando brotes de enfermedades por ingestión de alimentos, principalmente por la inadecuada manipulación. (Forsythe, 2002).

### **ÁMBITO DEL CONTROL DE CALIDAD:**

- Control en la elaboración del producto.
- Control de las materias primas y productos finales para asegurar que cumplen las normas o estándares establecidos.
- Control higiénico en la línea de procesado.

### **Procesos para asegurar la calidad:**

- Evaluar las materias primas y los estándares del producto final.
- Diseño de la empresa.
- Disposición de la línea de procesado.
- Diseño de la maquinaria.
- Envasado, almacenamiento y distribución (Torres, 2006).



En términos microbiológicos, se debe tener un control estricto de la calidad inicial de las materias primas en cuanto a su desarrollo microbiano, mediante un monitoreo durante el proceso, en los puntos críticos de la cadena de producción y en el producto final.

De esta forma se pueden identificar, cuales son los problemas específicos localizados, de igual debe añadirse que el costo del producto aumentara debido a los gastos empleados en la prevención y evaluación:

- Costos de prevención: programas de entrenamiento dirigido a los operarios, a la limpieza y el mantenimiento.
- Costos de evaluación: análisis del producto final, controles del proceso e higiene y todas las inspecciones en general.

El costo extra que se genere, para mantener el producto en un alto nivel de calidad, compensa las posibles pérdidas económicas que supondría no hacer un ahorro en el aseguramiento de la calidad o descuidando la higiene del producto o la fábrica. (Torres, 2006).

### **CRITERIOS MICROBIOLÓGICOS.**

Para diferenciar un producto de calidad microbiológica admitido de una de calidad no admitida, es necesario aplicar normas o criterios microbiológicos que serán específicos para cada producto. La forma más segura, es emplear el número o tipo de microorganismos en el producto o sobre el producto, para evaluar su calidad y su seguridad microbiológica. (Torres, 2006).



### **Todo criterio microbiológico debe incluir:**

- Los microorganismos contaminantes: Aquellos que pueden ser de características patógenas o no patógenas, importantes en salud pública.
- Los métodos analíticos: Mediante los cuales, se busca el microorganismo implicado o sus toxinas.
- Los planes de muestreo: Obtener una muestra representativa de un determinado lote o producto, teniendo en cuenta el número de muestras que se toman y las que se analizan.
- Los límites microbiológicos: El límite contemplado dentro de la normatividad para el producto evaluado. (Torres, 2006).

### **Tipos de criterios:**

- Obligatorios: Aquel que no debe sobrepasar la norma. Si el producto no cumple las normas establecidas, será de carácter obligatorio establecer un tipo de corrección, incluyendo su rechazo, destrucción, reproceso o la utilización para otro tipo de productos.
- Consultivos: Permiten establecer límites de aceptabilidad y estos a su vez sirven para alertar las posibles deficiencias en el proceso. (Torres, 2006).

### **Componentes de un examen microbiológico:**

- Muestreo: Debe ser de manera adecuada, siguiendo los protocolos apropiados, las muestras deberán ser estadísticamente significativas y por esta razón se llevan a cabo planes o programas de muestreo.
- Método Analítico: Se busca el más sensible, que permita lo que se quiere, de igual manera se busca también que sea económico.
- Interpretación de resultados: Conocimiento y significado de los microorganismos presentes en el producto evaluado. (Torres, 2006).



### **PLANES O PROGRAMAS DE MUESTREO.**

El proceso en la toma de muestras tiene como objetivo fundamental, obtener una muestra representativa de un determinado lote o producto. La información suministrada también determina las características microbiológicas del producto que son útiles para su aceptación o rechazo. Posterior al análisis de las muestras, los resultados que se obtengan se compararán con los criterios que permitirán aceptar o rechazar el lote evaluado. (Vélez, 2005).

La elección de un plan o programa de muestreo adecuado, se diseña de tal manera que se pueda tener un criterio de decisión frente al lote o los lotes evaluados y si estos cumplen o no las normas microbiológicas vigentes para dichos productos. (Torres, 2006).

En teoría, los criterios de decisión se establecen de modo que se aceptan los lotes de calidad deseada y se rechacen aquellos que no la tienen. Es importante tener en cuenta que al no examinar el lote completo existe el riesgo de no aceptar aquel producto o productos óptimos o de aceptar aquel o aquellos que no cumplan con la calidad esperada, por esto hay que tener conocimiento del riesgo que acompaña a cada plan de muestreo. (Torres, 2006).

El tener un número de muestras representativas que se puedan examinar, menor es el riesgo de tomar una decisión equivocada, pero más muestras suponen un mayor número de análisis, un muestreo más engorroso, más costoso y una mayor pérdida de producto, por lo que hay que llegar a un acuerdo entre el plan de muestreo que se escoja y el grado de riesgo que es aceptable. (Torres, 2006).

### **PLANTAS MEDICINALES.**

*“Denomínese planta medicinal, toda especie vegetal que, sin originar perturbaciones tóxicas, haya manifestado en el uso tradicional, propiedades favorables a la restauración de la salud”.* (Alonso, 1998).



Desde épocas remotas el hombre tuvo que aprender a vestirse, comer y curarse. Para ello debió mimetizarse con su entorno y aprender del comportamiento de los animales, que basados en su instinto sabía seleccionar las especies que eran consideradas comestibles, de aquellas consideradas como medicinales y de las también tóxicas. Este aprendizaje tomo bastante tiempo y no todos estaban preparados de igual manera para llevarlo a la práctica.

Los continuos éxodos de muchos pueblos debidos a las constantes guerras conspiraron contra la adaptación del hombre a su medio o hábitat, solo las llamadas civilizaciones avanzadas, como los egipcios dieron muestras de un profundo conocimiento médico, y a través del Papiro De Ebers (primer documento médico de la antigüedad descubierto en 1872), demostraron las virtudes de muchas plantas medicinales en salud humana.

En Egipto, quienes profesaban el arte de curar era la casta sacerdotal perteneciente a los Brahmanes, ya que dentro de su concepción de vida *"quienes tenían las facultades de reparar los problemas del espíritu, también podían reparar los trastornos del cuerpo"*. (Alonso, 1998).

Los chinos dieron una muestra de la aplicación de las hierbas medicinales, según se señala en tratados como el Pen'tsao, reeditado y revisado durante las siguientes dinastías. También la India ofreció a través de obras fundamentales como el Caraca, Susruta y Vagabhta, donde se mencionan las virtudes de cientos de plantas medicinales. (Alonso, 1998).

En la Edad Media el empleo de las plantas medicinales sufre un proceso de estancamiento y poca credibilidad durante la Santa Inquisición que en su famosa "caza de brujas" mandó quemar en la hoguera a cientos de hombres y mujeres (curanderos de la época) que realizaban "conjuros con los poderes demoníacos" durante sus actos terapéuticos. Únicamente en los monasterios se centró el arte de curar, gracias al enjundioso trabajo de monjes y sacerdotes que tradujeron del griego y del latín las primitivas obras sobre el empleo medicinal de las



hierbas. Eran famosos sus huertos y sus preparados en forma de vinos medicinales, tradición que aún hoy se conserva (licor monacal y benedictino). (Alonso, 1998).

Durante la conquista de América los sacerdotes y frailes que se trasladaron al Nuevo mundo llevaron sus conocimientos médicos, los cuales se vieron enormemente enriquecidos por el contacto con chamanes indígenas que les transmitieron su saber respecto del empleo de las plantas medicinales americanas. El hecho de realizar la señal de la Cruz por parte de los indígenas fue aprendido de los españoles, para evitar y alejar "conjuros sospechosos" de otras fuerzas espirituales. En Europa, el arte de curar cobró un nuevo impulso por parte de los alquimistas, entre los que sobresalió la figura de Paracelso. En Italia se formaron importantes escuelas médicas, como por ejemplo la de Salerno. En Alemania surgen figuras como Samuel Hahnemann (mentor de la Homeopatía), Cristoph Hufeland, Heinrich Lahmann y Augusto Bier (promotor de la anestesia endovenosa y la raquitomía) quienes dieron un fuerte impulso a la medicina natural. (Alonso, 1998).

Finalmente, en el siglo XIX, cuando Friedrich Wohler produjo la síntesis de la urea a partir de una sustancia inorgánica (en cianato de amonio), se da comienzo a la industria de la síntesis química, ya que hasta entonces no se consideraba como fuente de materia orgánica ningún otro elemento que no fuese animal o vegetal. El siglo XX marca el liderazgo de los productos de síntesis, dejando relegadas a las plantas como una "*práctica medicinal menor*". (Alonso, 1998).

Entre 1982 y 1990 salen del mercado más de doscientas drogas sintéticas debido a graves problemas de intoxicación entre la población. Paralelamente la investigación con plantas medicinales continuó y de ahí surgen nuevas drogas de amplio empleo en la actualidad: como lo son Panax ginseng, Ginko biloba, Hipericum perforatum, Taxus bacata, Centella asiática, Aloe vera, Castaño de Indias, Hamamelis virginiana, Pygeum africanum, Serenoa repens, *Lentinus edodes* (shiitake), Fucus vesiculosus, etc. (Alonso, 1998).



La amplia diferencia entre las naciones industrializadas y los países del Tercer Mundo arrojó un importante número de personas que no pueden, por el momento, acceder a la medicina convencional. De ahí que la Organización Mundial de la Salud (OMS, 1998) propiciara la aceptación y puesta en práctica, por parte de las autoridades gubernamentales, de las mal llamadas Medicinas Alternativas, dando un especial interés a la investigación y prescripción de hierbas medicinales. (Alonso, 1998).

Por otra parte, dicha organización ha manifestado en 1996 que el 80% de la población mundial depende para su atención primaria de su salud, de las plantas medicinales. Los modernos métodos de extracción, identificación y estandarización de sustancias provenientes de las plantas, sumado a la investigación científica moderna (pruebas in vitro e in vivo sobre animales, ensayos preclínicos, clínicos, etc.) han permitido generar márgenes de seguridad en la prescripción de estos fármacos hacia la población lo cual, la diferencia en parte de la fitoterapia clásica que fundamenta su acción en el conocimiento empírico. (Alonso, 1998).

En los últimos diez años ha renacido en todo el mundo el interés por el uso de la medicina tradicional y la atención que se le presta. En China, la medicina tradicional representa cerca del 40% de toda la atención de salud prestada. En Chile la ha utilizado el 71% de la población, y en Colombia el 40%. En la India el 65% de la población rural recurre a las plantas medicinales para ayudar a atender sus necesidades de atención primaria en salud. (OMS, 2003).

### **FORMAS DE USO DE LAS PLANTAS MEDICINALES.**

Durante muchos años, el hombre ha tenido la curiosidad por conocer, más allá del efecto terapéutico de las plantas y cuáles son los ingredientes activos que hacen parte de estas, para ello se creó una ciencia denominada Farmacognosia (del griego *pharmakon*= droga; *gnosis* = conocimiento). Gracias a ella se pueden determinar los componentes de ciertas plantas o de ciertas especias que forman parte de la alimentación, tiene efecto terapéutico a dosis normales, pero se comportan como tóxicos a dosis altas y también aquellas plantas cuyos



componentes puedan tener un interés industrial (fibras, aceites etc), utilizados de igual manera en cosmética (elaboración de perfumes, cremas jabones), productos textiles (algodón) o insecticidas. (Alonso, 1998).

Las distintas formas de adquirir los componentes útiles de cada planta, se denomina Galénica, la cual se puede dividir en:

- Utilización natural: En cocción de una o varias plantas medicinales.
- Preparados galénicos: Bajo la forma de jarabes, extractos, pomadas, etc.
- La propia planta como fuente de materia prima: El principio activo obtenido se utiliza en forma directa o se realizan transformaciones químicas (hidrogenación, metilación, acetilación, etc.) para conseguir compuestos de acción rápida, carente de toxicidad y de menor inestabilidad.
- Extracción de sustancias inactivas: Se aíslan sustancias que no tienen actividad terapéutica, pero que su estructura química es precursora de otras farmacológicamente activas. (Alonso, 1998).

### **PRODUCTOS NATURALES DE ORIGEN VEGETAL.**

Históricamente, los productos de origen vegetal, particularmente las plantas medicinales y sus extractos, han pasado de tener un papel de supremacía en el arsenal terapéutico a un discreto segundo plano, para volver a tener, en las dos últimas décadas, una presencia cada vez mayor en la terapéutica. (Anderson, 2005).

Los remedios a partir de plantas medicinales presentan una inmensa ventaja con respecto a los tratamientos químicos. En las plantas los principios activos se hallan siempre biológicamente equilibrados por la presencia de sustancias complementarias, que van a potenciarse entre sí, de forma que en general no se acumulan en el organismo, y sus efectos indeseables están limitados. Sin embargo, a pesar de que han aumentado las investigaciones y estudios científicos de las plantas medicinales, todavía no se conocen muchos de los principios activos a los que deben las plantas sus extraordinarias cualidades. (Anderson, 2005).



De igual forma es importante recordar que la forma de recolección y conservación de las plantas, es clave, ya que, desde el mismo momento de la recolección, sufren un cierto número de transformaciones biológicas. Así al separar la parte aérea de la raíz, se provoca una interrupción del flujo alimenticio y de transpiración. Las enzimas que contiene, y que antes favorecían la formación de materias activas, empiezan ahora a descomponerla. En el organismo vegetal, las anteriores reacciones de síntesis orgánica, comienzan a ser suplantadas por reacciones de degradación, y el producto se transforma desde el punto de vista químico. Estas transformaciones se manifiestan con emisión de olor, modificación del color, etc. Una incorrecta recolección y desecación, aumenta la cantidad de productos de degradación, perdiendo la planta parte de su calidad. (Alonso, 1998).

### **IMPORTANCIA DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN PLANTAS MEDICINALES.**

Los productos de origen natural generalmente suelen contener un elevado número de bacterias y hongos, sobre todo procedentes del suelo en el caso de las hierbas. Las condiciones en las que se recolectan las materias primas favorecen una contaminación abundante y el crecimiento de la microbiota, aunque cuando estos productos se desecan por calentamiento se disminuye considerablemente.

La carga bacteriana predominante suele estar compuesta por bacterias aerobias esporuladas, no esporuladas, microorganismos indicadores y algunos patógenos. La carga microbiana en estos productos puede reducirse mediante el empleo de óxido de etileno y, en menor medida con óxido de propileno. La irradiación también es efectiva en la reducción de los microorganismos presentes (Artusi, 2000). Después de la recolección y desecación no se producen alteraciones de origen bacteriano, sin embargo, los hongos pueden desarrollarse por factores como temperatura y humedad durante almacenamiento y el transporte. (Pérez, 1998).



## PLANTAS UTILIZADAS EN ESTE ESTUDIO.

<b>BOLDO.</b>	
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Peumus boldus molina.</i>
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida</i>
<b>Orden:</b>	<i>Laurales.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Monimiaceae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Peumus.</i>

**Parte Utilizada:** Las hojas (Anderson, 2005).

### Descripción botánica:

El boldo fue una planta muy empleada en Chile por las comunidades indígenas, su nombre se debe al botánico español D. Boldo. Vive exclusivamente en la zona de la ladera oeste de los Andes, ya que posee un clima de tipo mediterráneo, en las regiones de Valparaíso, Santiago y Concepción, en ambientes secos. Excepto en el norte de África no se cultiva en ningún otro lugar del mundo. (Ramírez, 1990).

Es un arbusto frondoso, aromático y se caracteriza por presentar una altura máxima de 6 metros, aunque puede alcanzar en la mayoría de los casos de 2 a 3 metros, sus hojas opuestas, elípticas, duras, áspera y desagradable al tacto por la cara superior, mientras la inferior es suave. Su color verde intenso se torna rojo con la desecación, son intensamente aromáticas, al igual que las flores y la corteza, y su perfume recuerda el de la menta. Las flores son blancas, pequeñas acampanadas, formando racimos. Los tallos amarillos, también olorosos, son comestibles. (Alonso, 1998).



La hoja se identifica con facilidad: su limbo oval verde grisáceo duro y quebradizo, con bordes ligeramente enrollados hacia la cara inferior se encuentra cubierto, en la cara superior, de prominencias que le dan un aspecto granuloso, rugoso al tacto. Al microscopio, las protuberancias de la cara superior aparecen provistas de pelos tectores unicelulares, de lumen estrecho, simples, agrupados en racimos (Gotteland, 1997).

Existen otras especies relacionadas, La *Monimia rotundifolia* que es un tipo de Boldo Australiano y que contiene un aceite esencial de composición similar al de este boldo tratado y de muy similares indicaciones y propiedades. La otra especie es la *Cryptocaria peumus* Nees que es una planta de la familia de las lauráceas. Esta planta se ha utilizado para falsificar el auténtico boldo debido a su parecido físico (Ramírez, 1990).

Es por medio de alcoholatura que se extraen con facilidad los principios activos del Boldo. Su intensa fragancia se percibe en la orina si se toma durante un tiempo prolongado. Se han aislado alcaloides derivados de la aporfina (0.25-0.50%): boldina, isoboldina, laurotetanina, lauroitsina. (Ramírez, 1990).

Otros componentes de importancias son: Aceite esencial o volátil (1,8-2.6%): que se encuentra en las hojas y formado principalmente por ascaridol (45%) y cineol (30%), alcaloides: en las hojas y corteza, glucósido y otros como derivados flavónicos, ácido cítrico, goma, azúcares (3-5%), taninos (1,2% en corteza), minerales (calcio, manganeso) y lípidos 5-10%). (Alonso, 1998).

### **Usos en medicina tradicional:**

Aunque experiencias realizadas en 1977 establecen dosis importantes de boldina, de alcaloides totales y de extracto etanólico purificado de boldo aumenta transitoriamente la secreción biliar en ratas anestesiadas, otros experimentos más recientes, realizadas con el mismo animal, demuestran la ausencia de una actividad colérica notable. Estas investigaciones establecen sin embargo que dosis elevadas de extracto hidroalcohólico



inhiben la peroxidación lipídica (hepatocitos cultivados de rata) y protegen, *in vitro*, a los hepatocitos de las lesiones causadas por diferentes xenobióticos. La boldina es responsable de estas actividades y su capacidad de proteger *in vitro* a los sistemas biológicos frente a la acción peroxidante de los radicales libres ha sido confirmada por otros autores sobre un homogenizado de cerebro de rata. Además, la boldina ejerce *in vitro*, un efecto relajante sobre musculatura lisa (ileon aislado de rata) por interferencia directa sobre el mecanismo colinérgico implicado en la contracción. (Daniel, 1988).

Tiene una acción hepatoprotectora, aperitiva, digestiva, colagoga, antiinflamatoria, antihelmíntica, fungicida y diurética. A dosis elevadas es anestésico, sedante e hipnótico y sus propiedades medicinales y posibles indicaciones de esta planta, es de amplio uso popular (Alonso, 1998).

Los extractos de boldo y la boldina extraída de las cortezas del árbol forman parte de la composición de especialidades para tratamientos a nivel digestivo. En Francia, los fitomedicamentos a partir de hojas de boldo pueden reivindicar dos indicaciones (vía oral): utilizados tradicionalmente para facilitar las funciones de eliminación urinaria y digestiva; utilizada tradicionalmente como coleréticos y colagoga. Para este tipo de productos se debe obligatoriamente establecer un contenido límite en principio activo. (Daniel, 1988).

El Consejo de Europa ha incluido al boldo en la lista de fuentes naturales de condimentos alimenticios. (Anderson, 2005).

Es importante, tomar las dosis recomendadas ya que puede provocar irritación renal ya que puede ser causada por el aceite esencial, por lo tanto, las personas que se encuentren afectadas por trastornos renales deben evitar su consumo (Anderson, 2005).



<b>LINAZA CANADIENSE.</b>	
<b>Nombre Científico:</b>	Linum usitatissimum.
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida.</i>
<b>Orden:</b>	<i>Malpighiales.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Linaceae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Linum.</i>

**Parte Utilizada:** Las Semillas.

#### **Descripción Botánica:**

El lino es un cultivo de flores de pétalos azules cosechado en Canadá por el aceite de su semilla. Estas semillas pequeñas de linaza son lisas, planas y del color marrón claro. Se pueden utilizar en muchas formas, como comida nutritiva para la gente y alimento para los animales.

La gente ha comido la linaza desde tiempos antiguos. El gusto un sabor agradable y a nueces es una razón. Otra razón es la buena nutrición.

Planta anual con tallos huecos de hasta 80 cm, erectos, estriados, generalmente sólo ramificados en la mitad superior, glabros. Las hojas, alternas, de 10 - 40 por 1 - 7 mm, son lanceoladas o linear-lanceoladas, generalmente trinervadas, glabras. La inflorescencia en panícula laxa, está compuesta de flores largamente pediceladas. Los sépalos miden de 7 - 9 mm, son ovado-acuminados, trinervados, los internos con una escariosidad más o menos ancha y fimbriada en la parte superior. Los 5 pétalos de 12 - 21 mm, son de forma obovada.



Los frutos son cápsulas de 8 - 12 mm, globosas, puntiagudas con 10 lóculos con semillas de color oscuro, brillante y de forma aplastada y alargada de 5 - 6 mm. El fruto seco se denomina «baga» o «gárgola». En el hemisferio norte florece de febrero a abril.

### **Uso en medicina tradicional:**

Informes científicos recientes demuestran que la linaza en la dieta puede tener una influencia positiva sobre los niveles de colesterol, la digestión, el cáncer y las enfermedades del corazón.

Los siguientes son algunos ejemplos:

- Alivio Contra el Estreñimiento

El hecho de comer 50 gramos diarios de linaza horneada en bollos (molletes) ayudó a incrementar la frecuencia de movimientos intestinales y el número de días consecutivos con movimientos intestinales en un grupo de adultos de edad avanzada.

- Un Menor Riesgo de Enfermedades del Corazón

Los niveles totales de colesterol bajaron en un 9% y el LDL (el colesterol indeseable) disminuyó en un 18% en un grupo de nueve mujeres saludables, quienes comieron diariamente, durante cuatro semanas, 50 gramos de linaza molida (en forma de semillas molidas o cocinadas en el pan) junto a sus dietas regulares.

En un estudio similar de hombres y mujeres, 50 gramos de linaza disminuyeron el colesterol total y redujeron el suero lípido (grasa en la sangre) entre un 11% y un 16%.

- Prevención del Cáncer



La linaza puede prevenir el cáncer debido a los lignanos (que dan soporte al sistema hormonal femenino) y al ácido graso alfa-linolénico que contiene. Un nuevo estudio canadiense propone que un bollo de linaza con 25 gramos de linaza molida puede prevenir el cáncer del seno. El Dr. Paul Goss, director del Programa de Prevención del Cáncer de Seno en dos hospitales canadienses, ha demostrado que la linaza en la dieta puede prevenir el cáncer de seno. El estudio involucró a 50 mujeres que habían sido recientemente diagnosticadas con cáncer de seno. Mientras esperaban sus cirugías, las mujeres fueron divididas en dos grupos. Un grupo recibió diariamente un bollo conteniendo 25 gramos (equivalente a dos cucharadas) de linaza molida. A las otras se les dieron bollos ordinarios. Cuando se les removieron sus tumores, los investigadores los examinaron en busca de señales de qué tan rápidamente las células cancerosas habían crecido. Las mujeres que recibieron los bollos con linaza mostraron tumores de crecimiento más lento que las otras. Actualmente se llevan a cabo investigaciones científicas adicionales – que incluyen estudios a largo plazo – acerca de los efectos de una dieta con linaza en mujeres con cáncer de seno.

- Atención Centrada en las Grasas

A pesar de que cerca del 41% de una semilla de linaza es aceite, una cantidad muy baja de éste es grasa saturada. Más del 70% de la grasa de la linaza es poliinsaturada. Una de las características únicas de la grasa poliinsaturada de la linaza es la alta proporción de ácido alfa-linolénico (AAL), (un ácido graso omega-3) en relación al ácido linoleico (un ácido graso omega-6). Expertos en nutrición consideran esenciales a estos dos ácidos grasos debido a que el cuerpo no puede producirlos de cualquier otra sustancia. Las grasas esenciales deben comerse como parte de la dieta.

Otras semillas de plantas de maíz, girasol, y cacahuates contienen los ácidos grasos omega-6, pero solamente la linaza contiene tanto AAL esencial, un ácido graso omega-3. (Flax, 2018). No se recomienda el consumo de lino en caso de estenosis esofágica, que es el estrechamiento del conducto que va de la boca al estómago y que provoca la dificultad o molestias para el



tránsito de alimentos sólidos o semisólidos, y que en muchos casos puede ser originado por el reflujo gastroesofágico o por lesiones en el esófago.

En caso de diabetes, sobre todo si se toman medicamentos para tal fin, es necesario consultar con el médico antes de iniciar un tratamiento con semillas de lino, para evitar descompensaciones. Y en personas con problemas de tiroides, el consumo sistemático de semillas de lino debe estar sometido a control médico.

Se debe tomar con precaución durante el embarazo y, en cualquier caso, consultando con el pediatra.

Las semillas de lino no se deben masticar, es preferible tomarlas enteras o en macerados. La cutícula que recubre las semillas evitaría en tal caso el desprendimiento del ácido cianhídrico del interior, aunque su presencia, como ya se ha indicado, es muy baja. (Cebrián, 2016).

<b>SALVIA.</b>	
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Salvia Officinalis L.</i>
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliopsida.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Lamiales.</i>
<b>Orden:</b>	<i>Lamiaceae.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Mentheae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Salvia.</i>

**Parte Utilizada:** Las hojas.



### **Descripción Botánica:**

En México la salvia es una mata de base leñosa de hasta 80 cm de altura, no alcanza la altura de un arbusto. Tallos herbáceos ramificados y erguidos; profusamente cubiertos de hojas perennes, pecioladas, opuestas, ovales o lanceoladas, rugosas, aterciopeladas y de color verde grisáceo. Las flores, que aparecen entre mayo y julio, son de colores variables; pueden ser azules, violeta, rojo violáceo o blanco, agrupadas en espigas terminales. Los frutos son tetraquenos.

Propiedades curativas: Contiene Caninos, pentosanas, asparagina, dos saponósidos, ácidos oleanólico y ursólico, y principalmente gran cantidad de esencia (del 1,5 al 2,5 %) compuesta de pineno, salviol, cineol, borneol, tuyona, salvona, alcanfor y acetato de bornilo, así como un estrógeno todavía no bien definido.

El efecto farmacológico de distintas especies de salvia incluye efectos hipnóticos y sedantes, alucinógenos, relajante muscular, analgésico, estimulador de la memoria, anticonvulsivante, neuroprotector y antiparkinsoniano, así como atenuación del síndrome de abstinencia de alcohol y morfina. (Saavedra, K. y Gómez, J., 2011).

### **Uso en medicina tradicional:**

Contra la excesiva transpiración, especialmente la nocturna producida por fiebres altas. Es antisudoral, debido a la tuyona que bloquea las terminaciones nerviosas de las glándulas sudoríparas. Las glándulas sudoríparas y los vasos sanguíneos están inervados por fibras simpáticas colinérgicas, el resto son fibras simpáticas adrenérgicas. Por su aceite esencial, la salvia, bloquea a la acetilcolina y por lo tanto a las fibras simpáticas colinérgicas, por lo que cesa el sudor.

Se emplea contra las afecciones gástricas e intestinales, y concretamente sus procesos inflamatorios; es estomacal y antidiarreica. También es útil en la inflamación de las vías respiratorias altas, tos y tuberculosis. Se le reconocen propiedades cordiales, tónicas, estimulantes, diuréticas, antiespasmódicas y reguladoras de las funciones menstruales.



Externamente es eficaz en inflamaciones de la cavidad bucal y garganta, en gargarismos para las anginas, dolor de muelas y parodontitis. Se usa como desinfectante de la piel en cataplasmas y baños, especialmente aquellas afecciones de origen micósido, también en dermatosis, úlceras y llagas.

Se ponen a secar a la sombra y con buena corriente de aire, o bien en secadero a una temperatura máxima de 35°C. Se pueden realizar dos cosechas por año. Las partes secas se almacenan en recipientes herméticos, o en sobres cerrados, siempre resguardados de la humedad. No conservar más allá de tres años, ya que determinadas sustancias como los taninos y esencias se debilitan. (Saavedra, K. y Gómez, J., 2011).

GERMEN DE TRIGO	
	
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Triticum sativum.</i>
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Liliopsida.</i>
<b>Orden:</b>	<i>Poales.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Poaceae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Triticum.</i>

**Parte Utilizada:** Germen entero o aceite obtenido del germen.



### **Uso en medicina tradicional:**

El germen de trigo puede ser útil ya que tiene una acción antioxidante importante ya que no sólo contiene vitaminas (complejo vitamina B y vitamina E), minerales (magnesio, selenio, zinc, manganeso, etc.), sino que también posee enzimas que ejercen una acción antioxidante importante sobre la célula contra la formación de radicales libres (sustancias que pueden provocar enfermedades degenerativas).

Al parecer el germen de trigo sería beneficioso para tratar la diabetes, ya que las vitaminas que contiene podrían favorecer la segregación de insulina y su utilización por parte de la célula. Asimismo, enlentece la utilización de glucosa, gracias a la cantidad de fibra que tiene. Por otra parte, el germen de trigo es un alimento ideal tanto para los niños como para los adultos mayores ya que mejora el metabolismo nervioso, así como también contiene un alto porcentaje de proteínas necesarias para formar y reparar tejido.

El germen de trigo tiene una importante cantidad de fibra (13.2 g.), lo cual puede ser de mucha utilidad, especialmente si sufres de estreñimiento. También esta fibra tiene un efecto reductor del colesterol y de los triglicéridos, ya que capta las grasas de los alimentos y las elimina. Según diversos estudios el consumo diario de 2 cucharadas diarias de dicho cereal puede reducir hasta un 15% la concentración de colesterol y triglicéridos.

Dicho cereal también se utiliza como antidepresivo natural, por su alto contenido en vitaminas del complejo B.

Además, es utilizado en forma tópica para elaborar mascarillas para problemas de piel, como el acné.

Más allá de las propiedades especiales que pueda tener el germen de trigo, puedes consumir dicho cereal para tener una alimentación equilibrada que te permita prevenir ciertas enfermedades y tener una mejor calidad de vida.



Hay que dejar claro que el aceite de germen de trigo contiene gluten, es por esto que no se recomienda su uso en aquellas personas que sufren la enfermedad celíaca, evitando así algunos posibles riesgos.

Por lo demás, podemos decir que no existe otro riesgo más complicado que este, siendo lo más normal sufrir de diarrea al consumirla excesivamente.

<b>PAPAYA.</b>	
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Carica papaya.</i>
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida.</i>
<b>Orden:</b>	<i>Brassicales.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Caricaceae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Carica.</i>

**Parte Utilizada:** El Fruto.

### **Descripción Botánica:**

La papaya presenta una raíz principal pivotante que llega a desarrollarse hasta un metro de profundidad. Luego presenta un grupo de raíces secundarias que se desarrollan en un diámetro aproximado de 1,60 metros, estando las raíces absorbentes aproximadamente en los primeros 20 - 30 cm.



El tallo de la papaya es hueco, excepto en la zona de los nudos, donde existe una yema que puede convertirse en rama. El tamaño del tallo es muy variable, pudiendo ir desde 1,50 metros hasta los 10 metros de altura. Suele tener un diámetro de entre 10 - 30 cm.

La papaya presenta hojas en forma simple, alternas y son palmeadas. El peciolo de la hoja puede llegar a alcanzar entre 1 - 1,50 metros y el limbo entre 25 - 75 centímetros, contando con 7 - 10 lóbulos. El color del peciolo varía entre verde claro y morado según el tipo de papaya.

La flor de la papaya es de color blanco - amarilloso, nace próxima a la inserción de las axilas de las hojas y poseen 5 pétalos y 5 sépalos. La papaya puede desarrollar 3 tipos de flores: femenina, masculina y hermafrodita.

El fruto de la papaya es una baya, con diferentes formas, dependiendo esta del tipo de flor, pero también de la variedad. El fruto está formado por cáscara (exocarpio), pulpa (mesocarpio) y mucílago (endocarpio) que es donde se alojan las semillas.

La papaya varía mucho en color, desde amarillo pálido hasta color salmón y es muy rica en agua, azúcares, vitaminas y minerales.

Las semillas, que no están presentes en todos los frutos, están formadas por un pequeño embrión que está rodeado por el endospermo y dos capas más, una dura y otra mucilaginosa. (Martín, 2013).

### **Uso en medicina tradicional:**

- El Fruto.

Para uso infantil en disenterías durante la época de la dentición, se toma una rodaja tierna y pelada del fruto de la papaya, se hierve moderadamente por 5 – 8 min, se endulza al gusto y se dosifica en cucharadas en la leche. Debe observarse con cuidado pues puede tener un efecto



inverso. En la Isla de Guadalupe se prepara un jarabe utilizando las frutas maduras cocidas al horno y mezcladas con bastante azúcar. Es muy eficaz para la tos, incluso, en los casos de tuberculosis.

- El Látex.

Para el tratamiento de tricocéfalos se utiliza el látex mezclado con leche de coco y jugo de piña de ratón.

- Las Hojas.

El cocimiento de las hojas de la Papaya tiene buen efecto para el asma.

- Las Flores.

La infusión de las flores es emenagogo, febrífugo y expectorante. (Plantas medicinales, 2017).

Como efectos secundarios puede provocar:

- Diarreas.

El árbol de la papaya, conocido científicamente como *Carica papaya*, tiene propiedades digestivas, las cuales se concentran exclusivamente en el fruto. Debido a estas propiedades medicinales no es aconsejable que las personas que se encuentren con diarreas consuman este fruto, ya que pueden experimentar un empeoramiento de esta condición. (Plantas, 2018).



- Problemas de estómago.

Por la misma propiedad digestiva que tiene la papaya, no se recomienda su ingesta en grandes cantidades, sobre todo en los niños y en personas que habitualmente se enfermen del estómago, ya que pueden ser más susceptibles de verse afectados por la papaya.

- Problemas diuréticos.

El fruto del árbol de la papaya, conocido también como papayero o papayo, no debe ser ingerido por personas que se encuentren bajo tratamiento de diuréticos. Esto se debe a que la papaya tiene propiedades diuréticas, que pueden intensificar el efecto producido por los medicamentos.

- Alergias.

La savia de esta planta puede ocasionar reacciones alérgicas, sobre todo en aquellas personas sensibles a los componentes de la papaya.

- Embarazo.

Hasta el momento no se conocen casos ni existe evidencia científica de que el consumo de la papaya puede presentar inconvenientes para las mujeres embarazadas y las que se encuentran en el periodo de lactancia, por lo cual las mujeres que estén en estas condiciones pueden comer papaya en el embarazo sin problemas. Aunque es aconsejable que lo consuman en dosis normales, sin exagerar en la ingesta.



<b>JAMAICA</b>			
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Hibiscus sabdariffa.</i>		
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>		
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>		
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida.</i>		
<b>Orden:</b>	<i>Malvales.</i>		
<b>Familia:</b>	<i>Malvaceae.</i>		
<b>Género:</b>	<i>Hibiscus.</i>		

**Parte Utilizada:** La flor.

#### **Descripción Botánica:**

Es una planta perteneciente a la familia de las malváceas, anual de 1.5 a 2 metros de altura promedio, lo que puede cambiar según la variedad, fertilidad del suelo y condiciones de manejo. Presenta una raíz pivotante que se deforma fácilmente en suelos pesados, es una planta fotoperiódica que necesita más de once horas luz para su adecuado fructificación.

La reproducción de la planta es por autofecundación, presenta flores blancas con un centro rojo en horas de la mañana, pasando gradualmente a rosa a medida que avanza el día, llega a medir hasta 4 cm de largo, posee de 4 a 5 pétalos, tiene semillas negras las que son su método de reproducción distribuidas en una cápsula que se abre cuando los cálices alcanzan su completo desarrollo.

La especie se caracteriza por presentar por dos tipos de cultivares: uno de tallos ramificados y cáliz suculento; otro de tallos rectos sin ramas, llamadas variedades de chirrión, a veces con espinas, a este grupo pertenecen las variedades de fibra.



La jamaica es un cultivo con buena adaptación, se puede establecer en suelos aluviales, arcillosos, pedregosos, franco arenoso. Es un cultivo con excelentes resultados en la zona seca de Nicaragua porque es tolerante a la sequía, alcanzando buenos rendimientos en condiciones de secano con potencial para establecerse bajo riego o humedad controlada.

Fertilización. Se sugiere aplicar 80 Kg de nitrógeno y 30 kg de Fósforo durante la siembra, incorporado al suelo o en su defecto abono orgánico (compost) también distribuido en todo el terreno. (Meza, 2012).

Los componentes principales de la Rosa de Jamaica son: la Antocianina, grupo principal de pigmentos con características de glucósidos. Es generalmente de color rojo y violeta, soluble en agua, formada por una molécula de antocianina (aglucon) unida a una fracción de carbohidrato a través de un enlace B-glucósido. La Xeronina, alcaloide que ocasiona una reacción en el núcleo de la célula en la síntesis de proteína haciendo que las personas se sientan mejor, ya que brinda mayor energía tanto física como mental, y el Damnacanthal, sustancia natural muy potente para combatir afecciones cancerígenas.

### **Usos en medicina tradicional:**

La jamaica tiene gran diversidad de usos como: colorantes en la industria textil, en la cosmetología, perfumería, medicina, gastronomía, artesanías e incluso como planta ornamental. Con la semilla de la jamaica se produce aceite comestible; asimismo la semilla se puede consumir tostada. La flor de la jamaica se consume como: té, licor, jalea, mermelada, pulpa, gelatina, helado, jarabe, colorante, aderezos, dulces, conservas, bebida refrescante y como aditivo natural para mejorar el aspecto y sabor de otras plantas medicinales o preparados alimenticios. Las hojas tiernas se pueden consumir en ensaladas. También se utiliza como alimento para aves y como abono orgánico. Con la fibra se elaboran cordones que sustituyen al cáñamo o al yute.

La jamaica disminuye la presión arterial, por lo que es considerada como tónico cardíaco; es diurética, antiséptica, analgésica, antiinflamatoria, antimicrobiana, astringente, cicatrizante,



digestiva, depurativa, emoliente, sedativa, laxante suave, reductora de peso, desintoxicante, antioxidante, tonificante, estimulante, afrodisíaco, es vasodilatador y vitamínico.

Investigaciones científicas han comprobado que la Flor de Jamaica tiene una variedad de efectos positivos sobre la salud humana. Se sabe que la Jamaica es rica en una variedad de compuestos nutraceuticos como las antocianinas y procianidinas, fuertes antioxidantes que son la causa del color rojo intenso. Además, la Jamaica tiene un contenido significativo de las vitaminas A y C, una gran cantidad de minerales, ácido cítrico y málico entre muchos otros componentes. Los antioxidantes que se encuentran en la Jamaica hacen de ella un alimento que puede ayudar a combatir varias enfermedades.

Su consumo puede provocar:

- Problemas reproductivos

El consumo en exceso de flor de Jamaica podría llegar a causar inconvenientes tanto en hombres como mujeres. En ellas, abortos espontáneos. En ellos, bajo conteo de espermatozoides.

- Atención con la presión baja

Si eres hipotenso, debes tener precaución con el efecto anti hipertensivo que tiene esta planta.

- Efecto desmineralizante

Al ser una planta diurética, el consumo prolongado de esta planta podría llegar a generar cierto déficit en minerales muy importantes para la salud como el potasio o el sodio. También puede generar diarreas, ya que tiene propiedades depurativas y algo laxantes.



- Reacciones alérgicas

Como con la mayoría de las plantas, el consumo de la flor de Jamaica quizás cause reacciones alérgicas en personas con sensibilidad desconocida hacia ella.

Si bien los efectos secundarios de la flor de Jamaica no estarían plenamente demostrados, como con toda planta, no conviene abusar de ella. Tomar períodos de descanso en el consumo de hibisco podría ser una buena idea.

<b>ZARAGATONA.</b>	
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Plantago psyllium.</i>
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida.</i>
<b>Orden:</b>	<i>Lamiales.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Plantaginaceae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Plantago.</i>

**Parte Utilizada:** Las semillas.

**Descripción botánica:**

Se trata de una planta herbácea anual, aculecente, perteneciente a la familia de las Plantagináceas, caracterizada por presentar una vellosidad muy fina y corta que la encubre. El tallo es muy ramificado. Las hojas son lineares, lanceoladas, dentadas y pubescentes. Las flores, de color blanquecino, se hallan reunidas en espigas cilíndricas muy cortas, poseyendo cuatro estambres sobresalientes. El sépalo es caracterizado por un nervio central distinto



extendido desde la base hasta la cima; los pétalos lobados son ovales con una cima mucronada. El fruto es un pequeño píxido cubierto por una corola persistente. Las semillas son de color verde claro o rosado con una línea café que corre a lo largo de su lado convexo, ovaladas y claramente carinadas, miden de 2-3 mm.

Contiene mucílagos ácidos (12 a 15%), en el tegumento de la semilla: xilosa, ácido galacturónico, arabinosa, ramnosa. Heterósidos iridoides: aucubósido. Trazas de alcaloides: plantagonina, indicaína, indicamina); fitosteroles: beta-sitosterol, campesterol, estigmasterol; oligoelementos, sales de potasio, aceite insaturado (5 a 10%), proteínas (15-18%).

### **Uso en medicina tradicional:**

Esta planta tiene propiedades medicinales comprobadas desde la antigüedad ya que es conocida su uso como antiinflamatorio fuerte y como laxante suave, además de ser hipolipemiente e hipoglucemiante, antidiarreico. Además de utilizarse para tratar el estreñimiento, dolores reumáticos, colesterol alto, diabetes, ayuda a disminuir el apetito por lo que puede favorecer al tratamiento de la obesidad o sobrepeso, En uso externo es eficaz para heridas en la piel y afecciones como abscesos, forúnculos, eczemas, quemaduras, úlceras varicosas, gastritis, úlcera gastroduodenal, divertículos, cistitis, bronquitis. Las semillas son las que contienen los principios activos con propiedades curativas. (Plantas medicinales, 2018).

Hay varias opciones para elegir la forma de consumo, pero hay que ser constantes ya que sus efectos no son tan rápidos, pero si efectivos. No se conocen contraindicaciones del consumo de esta hierba, ya que sus efectos son moderados y requiere de varias tomas para que hagan efecto. Pero igualmente es conveniente consultar al médico antes de comenzar a utilizar remedios naturales, más aún en el caso de niños, mujeres embarazadas o personas con enfermedades crónicas para evitar efectos no deseados.

En dosis permitidas no presenta toxicidad si bien a veces se presenta hinchazón intestinal y meteorismo. Más raramente pueden presentarse casos de alergia que se manifiesta



inmediatamente en picor, erupciones en la piel e incluso dificultad respiratoria. De presentarse estos síntomas, se debe acudir rápidamente al médico. En caso de embarazo o de tomar otro medicamento debe consultarse con el médico antes de tomar este complemento.

<b>MENTA.</b>			
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Mentha.</i>		
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>		
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>		
<b>Clase:</b>	<i>Magnoliopsida.</i>		
<b>Orden:</b>	<i>Lamiales.</i>		
<b>Familia:</b>	<i>Lamiaceae.</i>		
<b>Género:</b>	<i>Mentha L.</i>		

**Parte Utilizada:** Las hojas.

**Descripción botánica:**

Hierba de tallos vellosos, algo rojos o morados, con bordes de hojas dentados, herbácea perenne, hasta de 30 cm de altura, aromática. Tallos rastreros, caducos, cuadrangulares, algo pubescentes, alados, rojizos o morados. Hojas opuestas, simples, ovales, aovadooblongas y oblogolanceoladas, limbo rugoso. Flores tubulares, rosado pálido o morado rojizo, reunidas en densas panículas terminales. Fruto seco indehiscente. Toda la planta exhala un agradable y fuerte aroma. Las hojas tienen sabor picante que deja fresca la boca al masticarlas.

La parte de esta planta que es utilizada con fines medicinales es la hoja y de los principios activos de la menta podemos destacar el mentol, el cineol o el limoneno y sus flavonoides, fenoles y taninos. Todos estos componentes son los que confieren a la menta sus cualidades terapéuticas.



### **Usos en medicina tradicional:**

La menta es una planta medicinal con acción digestiva, antiinflamatoria, expectorante, carminativa, antiespasmódica, aperitiva, antigripal, colerética, antiséptica, mucolítica, antirreumática, analgésica, antibacteriana, colagoga, antitusiva, antifúngica y descongestionante de las vías respiratorias.

La menta se puede usar de forma interna en infusión, aceite esencial (debe tener una etiqueta que indique explícitamente que es apta para uso interno) y en tintura. Para usos externos de la menta la podemos utilizar en baños, vahos, aceite esencial, cataplasmas, etc.

- Menta para digestiones lentas y pesadas.

La infusión o tintura de menta se utiliza con éxito para mejorar las digestiones lentas y pesadas debido a su efecto digestivo (promueve la buena digestión de los alimentos).

- Menta para gases y flatulencias.

Gracias a su acción carminativa, la infusión o tintura de menta es un remedio natural para prevenir y aliviar los gases del tubo intestinal y la hinchazón.

- Menta para el dolor de cabeza.

El dolor de cabeza, ya sea migraña o jaqueca, puede estar ocasionado por cientos de causas diferentes. Las malas digestiones y el mal funcionamiento de nuestro sistema digestivo es una causa del dolor de cabeza o cefalea. La menta es una planta medicinal que puede prevenir y aliviar los dolores de cabeza cuyo origen está en una mala digestión.



- Menta para la fatiga.

Esta hierba medicinal se utiliza para combatir la fatiga mental y física e incluso para los periodos de convalecencia. Al tener acción estimulante resulta ser un remedio natural muy útil para mejorar estos casos.

- Menta para tos, bronquitis, gripe y resfriado.

La menta tiene efecto descongestionante, expectorante y antiséptico, una combinación de propiedades medicinales excelentes para mejorar los síntomas de bronquitis, gripe y resfriado de forma natural. Otra gran cualidad de la menta es la de aliviar la tos incluso si hay espasmos.

- Menta para los hongos de la piel y uñas.

Una de las acciones de la menta es antifúngica, es decir, que elimina los hongos. Para estos casos se aplica de forma tópica un emplasto con menta o bien aceite esencial de menta mezclado con un aceite base si es en la piel (dermatomicosis), o se puede aplicar el aceite esencial directamente con un bastoncillo o gasa si queremos eliminar los hongos de las uñas (pie de atleta).

- Menta para eczema, dermatitis y urticaria.

La menta puede aliviar los casos de eczema y de urticaria si la aplicamos de forma tópica y local. Incluso, para aprovechar sus propiedades antisépticas, podemos utilizar la infusión de menta para limpiar heridas y picaduras de insectos y para aliviar el picor de éstas últimas.



- Menta para neuralgias.

Los dolores cuyo origen son de tipo neurológico pueden ser aliviados con la menta y se puede usar tanto de forma interna (en infusión o tintura) como de forma externa (uso tópico con aceite esencial o con cataplasmas).

- Menta para la inflamación y el dolor.

Para casos de golpes, esguinces, torceduras, y también pueden aprovechar su acción antiinflamatoria personas con artritis y en general con dolencias agudas y crónicas que incluyan la inflamación como síntoma o consecuencia.

Debido a su efecto estimulante, tanto la infusión como la tintura y el aceite esencial de menta pueden producir insomnio en algunas personas si se usa por la noche.

No está recomendado el uso de aceite esencial de menta de forma interna durante el embarazo y la lactancia ni tampoco en niños menores de 6 años.

No se debe usar el aceite esencial directamente sobre la piel, se debe mezcla con un aceite base como por ejemplo el aceite de almendras dulces, aceite de argán, aceite de oliva o incluso aceite de coco.



<b>SÁBILA.</b>	
<b>Nombre Científico:</b>	<i>Aloe vera.</i>
<b>Reino:</b>	<i>Plantae.</i>
<b>División:</b>	<i>Magnoliophyta.</i>
<b>Clase:</b>	<i>Liliopsida.</i>
<b>Orden:</b>	<i>Asparagales.</i>
<b>Familia:</b>	<i>Xanthorrhoeaceae.</i>
<b>Género:</b>	<i>Aloe.</i>

**Parte Utilizada:** El látex.

#### **Descripción botánica:**

El aloe, es una planta estolonífera que tiene las rosetas de hojas sentadas o casi sentadas. Hojas grandes y carnosas de 35 - 60 × 5 - 8 cm., de bordes espinosos y acabados en punta aguda. Aunque en la actualidad se estima que hay aproximadamente más de 360 variedades conocidas, sólo unas cuatro o cinco se consideran valiosas por sus propiedades y, en concreto, la *Aloe barbadensis*, cuyas hojas no suelen estar manchadas de blanco.

La inflorescencia del aloe es simple: tiene una o dos ramas. Las flores son amarillas o rojas, tubulares y se disponen al final de los tallos sin hojas.

Dando un corte transversal a la hoja, se pueden distinguir claramente y a simple vista dos zonas: capa exterior o corteza y el cuerpo interior o tejido esponjoso. Observando con un microscopio, se aprecia además una capa intermedia entre las anteriores (corteza y tejido esponjoso) formada por una especie de vainas vasculares de minúsculo tamaño.



La corteza está formada por células epidérmicas, resistentes y flexibles, separadas por estomas que permiten el intercambio líquido y gaseoso con el exterior. Las vainas vasculares intermedias están formadas por haces de células poligonales. El cuerpo interior de la hoja está formado por un tejido vascular esponjoso, que hace de vehículo a un fluido mucilaginoso donde se encuentran la mayor parte de los principios activos de la planta.

El principal activo que contiene esta planta y el utilizado por las personas es el *aloe vera*.

### Usos en medicina tradicional:

- Cicatrizante.

El gel del aloe vera permite cicatrizar heridas abiertas, debido a la regeneración celular y tisular que tiene esta planta. Además, tiene un efecto antiinflamatorio y antimicótico que permitirá curar las heridas de manera correcto.

- Coagulante.

Los componentes del aloe vera como el calcio, potasio y celulosa provocan en las heridas la formación de una red de fibras que ayudan a que las plaquetas de sangre se coagulen de manera rápida, pudiendo cicatrizar la lesión.

- Anti gástrico.

El Aloe Vera al tener el gel que tiene la propiedad regeneración celular y tisular ayuda a curar las llagas ulceraciones bucales, así como las lesiones inflamatorias e irritativas de la mucosa gastrointestinal.



- Anti Asma.

Así mismo el gel de la planta actúa como broncodilatador por su acción vaso constrictor, facilitando la respiración.

- Anti úlceras.

Como dijimos anteriormente sus propiedades antiinflamatorias y su actividad sobre la mucosa gastroduodenal destaca la acción protectora en lesiones de la mucosa gástrica, siendo su actividad anti ulcerosa. Así mismo, el acemanano presente en el aloe podría ser de gran utilidad para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales como la colitis ulcerosa.

- Anti varicoso.

Otra acción medicinal de la planta viene a ser la reducción de la presencia de los procesos varicosos por su acción vasoconstrictora, que a su vez evita la formación de las mismas.

Por vía oral contraindicada en las embarazadas y madres que amamantan.

El acíbar está recomendado sólo para curar heridas externas, por lo tanto, recomendamos no consumirlo porque podría perjudicar su salud. Bueno aparte sabe amargo.

Ya sabes que si piensas cultivar una planta de Aloe Vera no debes echarle mucha agua y debe estar abrigado, es decir, no debe estar en un frio menor a 10 grados.



### **BACTERIAS MESÓFILAS AEROBIAS.**

Las bacterias mesófilas aerobias se definen como un grupo heterogéneo de bacterias capaces de crecer entre 15 y 45°C, con un rango óptimo de 35°C. La presencia de este tipo de microorganismos refleja la calidad sanitaria de los productos analizados indicando, además de las condiciones higiénicas de la materia prima, la forma como fueron manipulados. Mediante el recuento de microorganismos aerobios mesófilos se estima la microbiota, pero sin identificar tipos de microorganismos. (Jawetz, 2005).

Tiene un valor limitado como indicador de la presencia de patógenos o sus toxinas. Un recuento total de aerobios mesófilos bajo, no asegura que un producto esté exento de patógenos o sus toxinas; tampoco un recuento total alto significa, inevitablemente, presencia de microbiota patógena. (Pascual, 2000).

### **HONGOS Y LEVADURAS.**

En el campo de la microbiología industrial se estudia tanto la acción nociva de los hongos en los alimentos y productos manufacturados, como el empleo de estos organismos en fermentaciones industriales en el campo de la biotecnología. Pertenecen a grupos taxonómicos muy diversos, aunque se pueden observar a simple vista, estos producen estructuras diminutas, reproductoras y vegetativas, que no es posible estudiar sin la ayuda del microscopio. Comúnmente se da el nombre de moho a ciertos hongos multicelulares filamentosos, dotados de un micelio verdadero y cuyo crecimiento en los alimentos se conoce fácilmente por su aspecto aterciopelado o algodonoso. Por esta razón, no es seguro establecer el límite entre los hongos y ciertos organismos productores de esporas y de micelio de las levaduras (Pascual, 2000).

Las levaduras son hongos que crecen generalmente en forma de agregados sueltos de células independientes, que pueden ser globosas, ovoides, piriformes, alargadas o casi cilíndricas. En algunos casos, forman cadenas de células alargadas adheridas de modo suelto, semejantes a



un micelio, por lo que se las denomina pseudomicelio. Algunas especies forman breves extensiones de verdadero micelio, con frecuencia ramificado. De acuerdo con lo expuesto, según se ha comentado, no existe un límite de separación definido entre las levaduras y otros hongos que forman un micelio típico (Pascual, 2000).

Las levaduras, cuando crecen sobre medios sólidos, forman colonias de aspecto característico que recuerda a las colonias bacterianas. En casi todas las especies de interés industrial, la manera general de reproducción vegetativa es por gemación. Muchas de ellas presentan reproducción sexual por medio de ascosporas, a diferencia de los hongos, las levaduras no pueden identificarse solamente por sus caracteres morfológicos; se precisa la ayuda de pruebas bioquímicas para la identificación específica (Pascual, 2000).

### **MICROORGANISMOS IMPLICADOS EN ESTE ESTUDIO.**

#### *Enterobacteriaceae.*

El recuento de la familia *Enterobacteriaceae*, se utiliza como indicador de la calidad higiénica, además como una posible fuente de contaminación fecal. Este recuento está recomendado en aquellos alimentos que, por su naturaleza tiene la posibilidad de estar contaminados con miembros de esta familia no fermentan la lactosa (Carrascal *et al*, 2003).

Este recuento se basa en la capacidad que posee esta familia para fermentar la glucosa y la ausencia de un sistema citocromo oxidasa en su sistema metabólico. Este grupo taxonómico incluye actualmente 41 géneros, entre los que se destacan: *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Plesiomonas*, entre otros. (Carrascal, 2003).

Coliformes totales (*Escherichia coli*).



Son microorganismos indicadores de contaminación (no exclusivamente de contaminación fecal). Indican manejo inadecuado en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la esterilidad de la materia prima (Louise A., 2013).

*Escherichia coli* es patógeno indicador de contaminación fecal. Indica manejo inadecuado, falta de equipo personal de bioseguridad en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la esterilidad de la materia prima (Brooks G. Butel J. Morse, S. 2011).

Características generales:

La denominación genérica coliformes designa a un grupo de especies bacterianas que tienen ciertas características bioquímicas en común e importancia relevante como indicadores de contaminación del agua y los alimentos (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

Este grupo de especies bacterianas las podemos encontrar principalmente en el intestino de los humanos y de los animales de sangre caliente, es decir, homeotermos, pero también ampliamente distribuidas en la naturaleza, especialmente en suelos, semillas y vegetales. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

Los coliformes se introducen en gran número al medio ambiente por las heces de humanos y animales. Por tal motivo suele deducirse que la mayoría de los coliformes que se encuentran en el ambiente son de origen fecal. Sin embargo, existen muchos coliformes de vida libre. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

Tradicionalmente se los ha considerado como indicadores de contaminación fecal en el control de calidad del agua destinada al consumo humano en razón de que, en los medios acuáticos, los coliformes son más resistentes que las bacterias patógenas intestinales y porque su origen es principalmente fecal. Por tanto, su ausencia indica que el agua es bacteriológicamente segura. Asimismo, su número en el agua es proporcional al grado de contaminación fecal;



mientras más coliformes se aíslan del agua, mayor es la gravedad de la descarga de heces. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

De tal manera son buenos indicadores de la calidad higiénica de los diferentes productos en los que el agua es un componente en su elaboración. El hallazgo de gran número de organismos en dichos productos y en el agua indica la polución o contaminación fecal. Ya que las enfermedades transmitidas por el agua generalmente son de carácter intestinal la presencia de polución indica la posibilidad de que existan agentes etiológicos productores de estas enfermedades. (Urbaneja, S., 2006)

En general, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del agua o en los sedimentos del fondo.

El grupo coliforme está formado por los siguientes géneros:

- *Escherichia*.
- *Klebsiella*.
- *Enterobacter*.
- *Citrobacter*.

No todos los autores incluyen al género *Citrobacter* dentro del grupo coliforme.

Dentro del grupo de coliformes se encuentra *Escherichia coli*, la cual forma parte de la familia *Enterobacteriaceae*, coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño, y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio. Como integrante de la flora normal del hombre y de muchos animales, se lo considera un germen indicador de contaminación fecal cuando está presente en el ambiente, agua y alimentos, junto con otros similares agrupados bajo la denominación de "bacterias coliformes" (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).



**Características del cultivo:** Las bacterias coliformes:

- Aerobias o anaerobias facultativas.
- Catalasa positiva.
- Oxidasa-negativas
- No esporogenas.
- Fermentan glucosa y lactosa con producción de ácido y gas a 37 °C en un tiempo máximo de 48 horas (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).
- Capaces de crecer en agar MacConkey y en medios simples con o sin agregado de NaCl
- Fermentadores y oxidativos en medios con glucosa u otros carbohidratos.
- Reductores de nitratos a nitritos.

*Escherichia coli.*

- Colonias lisas, circulares, convexas, con bordes bien diferenciados.
- Reacciones positivas para el indol, lisina descarboxilasa y fermentación del manitol.
- Produce gas a partir de la glucosa.
- Más del 90% de las colonias aisladas son positivas para  $\beta$  glucuronidasa con el empleo del sustrato 4-metilumbeliferil- $\beta$ -glucurónido (MUG) (Brooks G. Butel J. Morse, S. 2011).

Enfermedades producidas por *Escherichia coli*:

La mayoría de las *Escherichia coli* son inofensivas. Sin embargo, algunos tipos pueden producir enfermedades y causar diarrea. *Escherichia coli* enterotoxigénica causa la diarrea del viajero. *Escherichia coli* enterohemorrágica causa una diarrea hemorrágica y a veces puede causar insuficiencia renal y hasta la muerte. Estos problemas tienen más probabilidades de ocurrir en niños y en adultos con sistemas inmunológicos debilitados. (Brooks G. Butel J. Morse, S. 2011).



Se pueden adquirir infecciones por *Escherichia coli* al consumir alimentos que contienen la bacteria. También se puede adquirir la infección al beber accidentalmente agua en una piscina contaminada con desechos humanos. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

### *Salmonella spp.*

Es uno de los microorganismos que sufre injuria bacteriana, por lo que la búsqueda de este es dispendiosa. Es causante de salmonelosis, la primera causa de enfermedad transmitida por alimentos en Estados Unidos. Para su búsqueda en alimentos se puede utilizar métodos tradicionales o rápidos (tipo ELISA); en la legislación Latinoamericana el método a utilizar es el tradicional que incluye 5 pasos que son:

- Enriquecimiento no selectivo.
- Enriquecimiento selectivo.
- Aislamiento en medios específicos.
- Identificación bioquímica.
- Pruebas antigénicas.

### *Staphylococcaceae.*

Los miembros del género *Staphylococcus* son cocos Gram positivos, anaerobios facultativos, inmóviles, que habitualmente forman agrupaciones irregulares. Son catalasa positiva, oxidasa negativa, fermentan la glucosa de forma anaerobia, poseen ácido teitoico en sus paredes celulares, un ADN con un contenido mucho más bajo en G + C (30 a 39%). Los estafilococos residen normalmente en la piel, las glándulas cutáneas y las mucosas de animales de sangre caliente. (Prescott, 1999).

### *Staphylococcus aureus.*



Patógeno que normalmente vive en la piel y además en los pasajes nasales sin causar daño (Moreillon P. 2011).

### **Características Generales:**

*Staphylococcus aureus* es una bacteria esférica (coco), que puede encontrarse agrupada en pares, en cadenas cortas o en grupos en forma de racimos de uva. Estos organismos son Gram-positivos y algunas cepas producen una toxina proteica estable al calor que causa enfermedades en los humanos (food info net. 2011).

Taxonómicamente el género *Staphylococcus* pertenece a la familia *Staphylococcaceae*, la cual incluye tres géneros menos conocidos que son, *Gamella*, *Macrococcus* y *Salinicoccus*.

### **Características del cultivo:**

- Colonia amarilla grande en medio nutritivo.
- A menudo hemolítica en agar sangre.
- Anaerobios facultativos, crecen por la respiración aerobia o por fermentación que produce ácido láctico principalmente.
- Catalasa-positivos.
- Oxidasa-negativa.
- T° de crecimiento: 15-45°C
- NaCl: hasta 15 %.
- La mayoría de cepas son coagulasa-positiva.

Enfermedades producidas por *Staphylococcus aureus*:

Los *Staphylococcus aureus* pueden causar infección cuando penetran la piel a través de una cortadura o una úlcera o cuando dichas bacterias ingresan al cuerpo a través de un catéter o un



tubo de respiración. La infección puede ser menor y local (por ejemplo, un grano) o puede ser más seria (Moreillon P. 2011).

La mayoría de las infecciones por *Staphylococcus aureus* se presentan en personas con sistemas inmunitarios débiles, generalmente pacientes que se encuentran en hospitales y centros médicos de cuidados a largo plazo. Las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina son conocidas como infección por MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) un tipo de bacteria potencialmente peligrosa que es resistente a ciertos antibióticos y puede causar infecciones de la piel y de otro tipo (Moreillon P. 2011).

Se propaga mediante el contacto directo con la infección de otra persona, tocando superficies o elementos contaminados con la bacteria o compartiendo objetos personales, que hayan tocado la piel infectada y está relacionada con cuidados médicos o intrahospitalaria o sus siglas HA-MRSA (Hospital-acquired or healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*). Las personas que han sido hospitalizadas o que se han sometido a una cirugía dentro del último año tienen un alto riesgo de padecer esta afección, al igual que las personas que reciben ciertos tratamientos, tales como diálisis. Estas bacterias son responsables de un gran porcentaje de infecciones intrahospitalarias (Moreillon P. 2011).

Durante los últimos años, se han incrementado las infecciones por *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina en personas no consideradas de alto riesgo. Estas infecciones, conocidas como MRSA extrahospitalarias o sus siglas CA-MRSA (community acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), se presentan en personas sanas que no tienen antecedentes de hospitalización en el último año. Muchas de estas infecciones han ocurrido entre atletas que comparten equipos o elementos personales (como toallas o máquinas de afeitar) y niños en guarderías (Moreillon P., 2011).



Infecciones Cutáneas: normalmente provocan un área con enrojecimiento, inflamación y dolor en la piel. Otros síntomas pueden ser:

- Un absceso cutáneo.
- Secreción de pus u otros líquidos del sitio.
- Fiebre.
- Calor alrededor del área infectada.
- Hinchazón del sitio (Moreillon P., 2011).

Los síntomas de una infección más seria pueden ser:

- Erupción cutánea.
- Dificultad para respirar.
- Fiebre.
- Escalofrío.
- Dolor en el pecho.
- Fatiga.
- Dolores musculares.
- Malestar general.
- Dolor de cabeza. (Moreillon P., 2011).

Orzuelo (también conocido como hordeolum): Es una infección por estafilococos que afecta al párpado. Se desarrolla cuando las glándulas conectadas a la base de las pestañas se inflaman e irritan. Una persona con orzuelo generalmente notará una hinchazón rojiza, caliente, molesta y a veces dolorosa cerca del borde del párpado (Teenshealth,2009).

Impétigo: Es una infección cutánea superficial que ocurre con mayor frecuencia en los niños pequeños, aunque también se puede dar en adolescentes y adultos. La mayoría de las infecciones por impétigo afectan al rostro o a las extremidades, como las manos y los pies. Una infección cutánea por impétigo empieza como una pequeña ampolla o granito y luego desarrolla una costra de color miel. El impétigo generalmente no ocasiona fiebre ni dolor,



aunque las ampollas pueden provocar picazón y propagarse a otras partes del cuerpo a través del rascado (Teenshealth, 2009).

**Celulitis:** Es una infección que afecta a la piel y a áreas de tejido ubicadas debajo de la superficie cutánea. Empieza como una reducida área de piel enrojecida, dolorosa, hinchada y caliente. Cuando esta área empieza a extenderse, la persona afectada puede experimentar malestar general y desarrollar fiebre. La celulitis puede darse en cualquier parte del cuerpo, pero es más frecuente en las piernas (Teenshealth, 2009).

### **ORDEN PSEUDOMONADALES.**

El género *Pseudomonas* es el más importante del orden *Pseudomonadales*, familia *Pseudomonadaceae*. El género *Pseudomonas* contiene bacilos rectos o ligeramente curvados, de una longitud de 0.5 a 1.0  $\mu\text{m}$  por 1.5 a 5.0  $\mu\text{m}$ , que se desplazan mediante uno o varios flagelos polares y carecen de prostecas o vainas. Estas bacterias quimioheterótrofas son aerobias, todas las *Pseudomonas* tienen un ciclo de ácidos tricarbónicos funcional y pueden oxidar sustratos a  $\text{CO}_2$ . (Prescott, 1999).

Una de las propiedades más notables es la gran variedad de compuestos orgánicos que utilizan como fuente de carbono y energía. La mayor parte de las cepas proporciona un pigmento de fenacina verde e hidrosoluble, que imparte un color verdoso al medio de cultivo. Las colonias son grandes, pueden ser mucoides o secas y a menudo se dispersan, también pueden presentar pigmentos como la piorrubina (rojo), la piomelanina (marrón a negro) y la pioverdina (amarillo). (Jawetz, 2005).



*Pseudomonas aeruginosa*.

Patógeno procedente de suelo, agua, plantas y animales (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011). Su presencia indica manejo inadecuado en el proceso de elaboración del producto y deficiencia en la asepsia de la materia prima.

### **Características generales:**

*Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo dotado de motilidad mide casi  $0.6 \times 2 \mu\text{m}$ . Es Gram-negativo, se la encuentra en pares y ocasionalmente en cadenas cortas. En cultivo puede producir múltiples tipos de colonias y da la impresión de un cultivo de especies bacterianas mixtas. *Pseudomonas aeruginosa* da colonias de diferente tipo también puede presentar actividades enzimáticas y bioquímicas diferentes y distintos patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

### **Características del cultivo:**

Es aerobio obligado que crece fácilmente sobre muchos tipos de medio de cultivo, a veces produce un olor dulzón semejante a jugo de uva o de maíz. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

Algunas cepas causan hemólisis. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

Colonias redondas y lisas de color verde fluorescente. Con frecuencia produce piocianina, un pigmento azulado no fluorescente que difunde en agar. Muchas cepas también producen pioverdina, el pigmento fluorescente que confiere color verdoso al agar. Algunas cepas producen pioverdina, pigmento rojo oscuro piorrubina o piomelanina, pigmento negro (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).



Crece bien de 37 a 42°C; su crecimiento a 42°C ayuda a diferenciarla de otras especies de *Pseudomonas* en el grupo fluorescente.

- Oxidasa-positiva.
- No fermenta los carbohidratos, pero muchas cepas oxidan la glucosa. (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

Enfermedades producidas por *Pseudomonas aeruginosa*:

*Pseudomonas aeruginosa* solo es patógena cuando se introduce en regiones desprovistas de defensas normales, por ejemplo, mucosas y piel lesionadas por daño tisular directo; el empleo de catéteres intravenoso o urinario; o cuando hay neutropenia, como en la quimioterapia contra el cáncer. Las bacterias se unen a las mucosas o la piel y las colonizan, invaden localmente y producen enfermedad sistémica. Estos procesos se favorecen por pili, enzimas y toxinas. El lipopolisacárido desempeña una función directa en la génesis de la fiebre, choque, oliguria, leucocitosis y leucopenia, coagulación intravascular diseminada y síndrome de insuficiencia del adulto (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

*Pseudomonas aeruginosa* produce infección en heridas y quemaduras formando pus de color azul verdoso. Cuando se introduce por punción lumbar causa meningitis, cuando la vía de entrada son catéteres, instrumentos o soluciones irrigantes causa infección del aparato urinario. La afección del aparato respiratorio, en especial por aparatos respiradores contaminados, produce neumonía necrosante. Esta bacteria se observa con frecuencia en la otitis externa leve de los nadadores y en pacientes diabéticos puede producir otitis externa invasora (maligna). La infección del ojo, que puede conducir a la destrucción rápida de ese órgano, ocurre con mayor frecuencia después de procedimientos y lesiones quirúrgicas. En la mayor parte de infecciones por *Pseudomonas aeruginosa* los síntomas y signos son inespecíficos y se relacionan con el órgano afectado. En ocasiones se puede detectar verdoglobina (producto del desdoblamiento de la hemoglobina) o un pigmento fluorescente en las heridas y en la orina, mediante fluorescencia ultravioleta. En la septicemia causada por *Pseudomonas aeruginosa* casi siempre



hay necrosis hemorrágica de la piel; la lesión, denominada ectima gangrenoso, está rodeada por eritema y con frecuencia no contiene pus (Brooks G. Butel J. Morse, S., 2011).

### **EPIDEMIOLOGÍA.**

Tiene distribución mundial, es cosmopolita.

Se aísla de suelos, agua, plantas, animales, incluyendo al hombre, algunas veces es patógeno para animales y vegetales.

Predilección por un medio ambiente húmedo, esto es evidente ya que su ambiente natural está relacionado con agua y suelo.

Colonización humana ocurre en sitios húmedos como el perineo, axilas y oídos, la humedad es un factor crítico en los hospitales, reservorios, equipos de ventilación mecánica, soluciones de limpieza, medicamentos y desinfectantes etc.

Enfermedad humana extrahospitalaria también se asocia a ambientes húmedos: piscinas, soluciones para lentes de contacto, etc.

Pacientes con quemaduras en piel. (Torres, 2006).



Según la RTCA 11.03.56:09, exige que se cumplan los siguientes parámetros para Productos Naturales de uso humano.

- Etiquetado.

Debe cumplir con el RTCA 11.04.41:06 Productos Naturales de uso Humano. Productos Naturales con propiedades Medicinales. Etiquetado de los Productos Naturales.

- Pruebas.

**Tabla N°1.** Pruebas físicas, químicas y microbiológicas.

Forma farmacéutica.	Pruebas.
<b>Tabletas con y sin recubrimiento.</b>	✓ Características organolépticas.
	✓ Variación de peso.
	✓ Friabilidad.
	✓ Fuerza de Ruptura.
	✓ Desintegración.
	✓ Determinación de Agua.
	✓ Identificación general o específica.
	✓ Recuento microbiano.
<b>Cápsulas de gelatina dura y blanda.</b>	➤ Características organolépticas.
	➤ Desintegración (cápsulas duras).
	➤ Variación de peso.
	➤ Determinación de agua.
	➤ Identificación general o específica.
	➤ Recuento microbiano.
<b>Soluciones, suspensiones y Emulsiones.</b>	✓ Características organolépticas.
	✓ Volumen de entrega. *



	✓ pH.
	✓ Densidad.
	✓ Identificación general o específica.
	✓ Contenido alcohólico.
	✓ Recuento microbiano.
<b>Cremas, ungüentos y Geles.</b>	➤ Características organolépticas.
	➤ Llenado mínimo. *
	➤ pH.
	➤ Identificación general o específica.
	➤ Recuento microbiano.
<b>Parte entera, triturados y polvos.</b>	✓ Características organolépticas.
	✓ Llenado mínimo. *
	✓ Determinación Metales Pesados.
	✓ Determinación Arsénico.
	✓ Pérdida por secado.
	✓ Determinación de agua.
	✓ Identificación general o específica.
	✓ Cenizas totales.
	✓ Cenizas insolubles en ácido.
	✓ Recuento microbiano.

NOTAS:

1. Las pruebas a las que se refiere la tabla N°1 se ejecutarán cuando apliquen de acuerdo a las monografías oficiales, o en su defecto a las aportadas por el fabricante.
2. Las especificaciones de las pruebas físicas y químicas mencionadas en la Tabla N°1 serán tomadas de los libros oficiales o de la literatura técnica reconocida, o en su defecto las que establezca el fabricante.



3. (\*) Las pruebas indicadas con asterisco serán realizadas a los productos naturales por vigilancia sanitaria o denuncia recibida.

**Tabla N°2.** Especificaciones para determinación de recuento microbiano. Expresados en UFC/g o cm<sup>3</sup>.

Producto natural.	Recuento total de aerobios viables.	Recuento total de hongos y levaduras.	Recuento total de Enterobacterias.
Preparaciones de administración oral.	$\leq 10^4$	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$
Producto al que se le agrega agua a temperatura ambiente antes de su uso.	$\leq 10^5$	$\leq 10^4$	$\leq 10^3$
Producto al que se le agrega agua hirviendo antes de su uso.	$\leq 10^7$	$\leq 10^5$	-----
Preparaciones de administración tópica	$\leq 10^2$	$\leq 10^2$	$\leq 10^1$



**Tabla N°3.** Especificaciones para determinación de microorganismos patógenos. Expresados en UFC/g o cm<sup>3</sup>.

<b>Producto Natural.</b>	<i>Staphylococcus aureus.</i>	<i>Escherichia coli.</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa.</i>	<i>Salmonella Sp.</i>
<b>Preparaciones de administración oral.</b>	Ausente	Ausente	-----	Ausente
<b>Producto al que se le agrega agua a temperatura ambiente antes de su uso.</b>	-----	Ausente	-----	Ausente
<b>Producto al que se le agrega agua hirviendo antes de su uso.</b>	-----	Ausente	-----	-----
<b>Preparaciones de administración tópica.</b>	Ausente	-----	Ausente	-----

NOTA:

1. Se toma como referencia las especificaciones para determinación de microorganismos patógenos para las tablas N°2 y N°3 del presente reglamento los valores aportados por



el Apéndice XVI D: “Microbiological quality of pharmaceutical preparations” de la Farmacopea Británica 2007, Volumen 4, por contener la información más completa en torno a los recuentos microbiológicos permitidos.

2. Se realizarán sólo los parámetros microbiológicos definidos en este Reglamento, los cuales se expresarán en función de la metodología utilizada con las unidades correspondientes a  $< 3$  NMP/g o  $< 10$  UFC/g que equivale a “Ausente”.

### **MÉTODOS DE RECUEENTOS MICROBIANOS.**

Los métodos descritos en el presente ítem son los detallados la Farmacopea Americana para el recuento de microorganismos (USP 36).

1. Ensayo de fertilidad, idoneidad del método de recuento y controles negativos. (USP 36).

Debe establecerse la capacidad del ensayo para detectar microorganismos en presencia del producto a examinar y confirmarse la idoneidad de un método cada vez que se introduzca alguna modificación en la realización del ensayo, o en el producto, que pueda influir en los resultados.

2. Preparación de los microorganismos de ensayo. (USP 36).

Se recomienda utilizar suspensiones de cepas de ensayo de colecciones reconocidas prepararlas como se indica a continuación.

Es conveniente aplicar técnicas de mantenimiento de cultivo de lote de siembra (sistemas de lote de siembra) de modo que los microorganismos viables utilizados para la inoculación no hayan experimentado más de 5 pasajes a partir del lote de siembra primario original.



Cultivar por separado cada una de las cepas bacterianas y fúngicas de ensayo como se describe en la Tabla N°4.

Para la preparación de las suspensiones de microorganismos es conveniente utilizar una solución de peptona-cloruro de sodio tamponada a pH 7,0 o un tampón fosfato a pH 7,2.

Para preparar la suspensión de *B. subtilis*, se prepara una suspensión estable de esporas y a continuación se usa para la inoculación un volumen apropiado de la misma. Esta suspensión de esporas puede mantenerse a 2-8 °C durante un periodo de tiempo validado.

### 3. Control negativo. (USP 36).

Para verificar las condiciones de trabajo resulta conveniente preparar un control negativo utilizando el diluyente elegido en lugar de la preparación a examinar. No se debe observar ningún crecimiento de microorganismos. Un resultado no conforme en el control negativo, requiere una investigación.

### 4. Ensayo de fertilidad de los medios de cultivo. (USP 36).

Analizar cada lote de medio, ya sea adquirido listo para su uso o preparado a partir de un medio deshidratado o a partir de los ingredientes descritos de acuerdo a un análisis de riesgo.

Sembrar los medios de cultivo líquidos y las placas conteniendo medios de cultivo sólidos para recuento (como máximo 100 UFC) con los microorganismos indicados en la Tabla N°4, utilizando una porción de caldo / placa con medio distinta para cada uno. Incubar en las condiciones descritas en la Tabla N°4.



Para los medios sólidos, el crecimiento obtenido no debe diferir en un factor superior a 2 del valor calculado para un inóculo normalizado. Para un inóculo recién preparado, se debe observar un crecimiento de los microorganismos comparable al obtenido con un lote de medio previamente controlado y aprobado.

Los medios líquidos se pueden considerar adecuados si se observa un crecimiento claramente visible de los microorganismos comparable al obtenido con un lote de medio previamente controlado y aprobado.

### 5. Idoneidad del método de recuento en presencia de producto. (USP 36).

Preparación de la muestra.

La preparación de la muestra depende de las características físicas del producto a examinar. Si no se puede demostrar que es satisfactorio ninguno de los procedimientos descritos a continuación, es necesario desarrollar un procedimiento alternativo.

Productos hidrosolubles: Disolver o diluir (generalmente se prepara una dilución 1 en 10) el producto a examinar en solución tamponada de peptona-cloruro de sodio a pH 7,0, tampón fosfato a pH 7,2 o caldo con hidrolizado de caseína y de soja. Si es necesario, ajustar a pH 6-8. Puede ser necesaria la preparación de diluciones adicionales con el mismo diluyente.



Tabla N°4. Preparación y uso de microorganismos de prueba. (USP 36).

Microorganismo.	Preparación de Cepas de Prueba.	Promoción de Crecimiento.		Aptitud del método de Recuento en presencia del producto.	
		Recuento Total de Microorganismos Aerobios.	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras.	Recuento Total de Microorganismos Aerobios.	Recuento Total de Hongos Filamentosos y Levaduras.
<b>Staphylococcus aureus. por ejemplo ATCC 6538, NCIMB 9518, CIP 4.83 o NBRC 13276.</b>	Agar Digerido de Caseína y Soja o Caldo Digerido de Caseína y Soja 30° - 35°, por 18 – 24 horas.	Agar Digerido de Caseína y Soja o Caldo Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 3 días.		Agar Digerido de Caseína y Soja/NMP Caldo Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 3 días.	
<b>Pseudomonas aeruginosa, por ejemplo ATCC 9027, NCIMB 8626, CIP 82.118 o NBRC 13275.</b>	Agar Digerido de Caseína y Soja o Caldo Digerido de Caseína y Soja 30° - 35°, por 18 – 24 horas.	Agar Digerido de Caseína y Soja o Caldo Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 3 días.		Agar Digerido de Caseína y Soja/NMP Caldo Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 3 días.	
<b>Bacillus subtilis por ejemplo ATCC 6633, NCIMB 8054, CIP 52. 62 o NBRC 3134.</b>	Agar Digerido de Caseína y Soja o Caldo Digerido de Caseína y Soja 30° - 35°, por 18 – 24 horas.	Agar Digerido de Caseína y Soja o Caldo Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 3 días.		Agar Digerido de Caseína y Soja/NMP Caldo Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 3 días.	



<p><i>Candida albicans</i> <b>por ejemplo</b> <b>ATCC 10231,</b> <b>NCPF 3179, IP</b> <b>48.72 o NBRC</b> <b>1594.</b></p>	<p>Agar Sabouraud Dextrosa o caldo Sabouroud Dextrosa 20° - 25° por 2 – 3 días.</p>	<p>Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 5 días.</p>	<p>Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC, 20° - 25° ≤ 5 días.</p>	<p>Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 5 días. NMP, no aplica.</p>	<p>Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC, 20° - 25° ≤ 5 días.</p>
<p><i>Aspergillus brasiliensis</i> <b>por ejemplo ATCC 16404, IMI 149007, IP 1431.83 o NBRC 9455.</b></p>	<p>Agar Sabouraud Dextrosa o Agar papa dextrosa 20° - 25° por 5 – 7 días o hasta alcanzar una buena esporulación.</p>	<p>Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 5 días.</p>	<p>Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC, 20° - 25° ≤ 5 días.</p>	<p>Agar Digerido de Caseína y Soja ≤ 100 UFC, 30° - 35° ≤ 5 días. NMP, no aplica.</p>	<p>Agar Sabouraud Dextrosa ≤ 100 UFC, 20° - 25° ≤ 5 días.</p>

#### 6. Inoculación y Dilución. (USP 36).

Agregar a la muestra, preparada según las instrucciones previas, y a un control (sin incluir material de la prueba) un volumen suficiente de suspensión microbiana para obtener un inóculo de no más de 100 UFC. El volumen de la suspensión del inóculo no debe exceder del 1 % del volumen del producto diluido.

Para demostrar una recuperación microbiana aceptable del producto, se debe usar el factor de dilución más bajo posible de la muestra preparada para la prueba. Si esto no fuera posible debido a la actividad antimicrobiana o la baja solubilidad, deben desarrollarse otros protocolos adecuados.



Si la inhibición del crecimiento por la muestra no puede evitarse de cualquier otra manera, la alícuota de suspensión microbiana puede agregarse después de la neutralización, la dilución o la filtración.

### 7. Neutralización/ eliminación de la actividad antimicrobiana. (USP 36).

El número de microorganismos recuperados a partir de la muestra preparada, diluida e incubada como se ha descrito previamente, se debe comparar con el número de microorganismos recuperados de la preparación control.

En caso de inhibición del crecimiento (reducción en un factor mayor que 2), modificar el procedimiento a seguir para el ensayo particular de recuento para garantizar la validez de los resultados.

La modificación del procedimiento puede incluir, por ejemplo:

- 1) un aumento del volumen del diluyente o del medio de cultivo,
  - 2) la incorporación al diluyente de agentes neutralizantes específicos o generales,
  - 3) una filtración por membrana, o
  - 4) una combinación de las modificaciones anteriores.
8. Agentes neutralizantes. (USP 36).

Estos agentes pueden utilizarse para neutralizar la actividad de los agentes antimicrobianos añadiéndolos al diluyente elegido o al medio preferiblemente antes de la esterilización. Si se utilizan, su eficacia y su ausencia de toxicidad para los microorganismos se deben demostrar preparando un blanco con neutralizante y sin producto respectivamente.

Si no se puede encontrar ningún método de neutralización adecuado, se puede suponer que la imposibilidad de aislar el organismo inoculado es debido a la actividad microbicida del



producto. Esta información sirve para indicar que no es probable que el producto sea contaminado con la especie dada del microorganismo. Sin embargo, es posible que el producto sólo inhiba algunos de los microorganismos pero que no inhiba otros no incluidos entre las cepas de ensayo o para los que estas últimas no son representativas.

### 9. Recuperación de microorganismos en presencia del producto. (USP 36).

Efectuar ensayos separados para cada uno de los microorganismos citados. Sólo se deben tener en cuenta los microorganismos de la cepa de ensayo añadida.

#### a. Filtración por membrana. (USP 36).

Utilizar membranas filtrantes que tengan un tamaño de poro nominal no superior a 0,45  $\mu\text{m}$ . El tipo de material filtrante se elige de tal forma que la eficacia de retención de las bacterias no se vea afectada por los componentes de la muestra a examinar. Se debe utilizar una membrana filtrante para cada microorganismo ensayado.

Transferir a la membrana filtrante una cantidad adecuada de la muestra preparada como se ha descrito anteriormente (preferentemente equivalente a 1 g del producto, o menos si se esperan números elevados de UFC), filtrar inmediatamente y lavar la membrana filtrante con un volumen apropiado de diluyente.

Para la determinación del recuento de microorganismos aerobios totales (RMAT), transferir la membrana filtrante a la superficie del agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja. Para la determinación del recuento de levaduras / mohos combinados totales (RLMT), transferir la membrana a la superficie del agar-agar glucosado de Sabouraud. Incubar las placas como se indica en la Tabla 4. Efectuar el recuento.



### b. Métodos de recuento en placa. (USP 36).

Realizar los métodos de recuento en placa al menos por duplicado para cada medio y utilizar el valor promedio de los resultados.

#### b.1. Método de vertido en placa.

Para placas de Petri de 9 cm de diámetro, añadir a la placa 1 mL de la muestra preparada anteriormente y 15-20 mL de agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja o agar-agar glucosado de Sabouroud, estando ambos medios a una temperatura no superior a 45 °C. Si se utilizan placas de Petri más grandes, la cantidad de medio de agar-agar se aumenta proporcionalmente. Para cada uno de los microorganismos citados en la Tabla 4 se usan al menos 2 placas de Petri. Incubar las placas como se indica en la Tabla 4. Obtener la media aritmética de los recuentos por medio y calcular el número de UFC en el inóculo original.

#### b.2 Método de extensión en superficie.

Para placas de Petri de 9 cm de diámetro, añadir a cada placa 15-20 mL de agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja o de agar-agar glucosado de Sabouraud a una temperatura de aproximadamente 45 °C y dejar que solidifique. Si se usan placas de Petri más grandes, el volumen del agar-agar se aumenta proporcionalmente. Secar las placas, por ejemplo, en una cabina de flujo laminar o en una incubadora. Para cada uno de los microorganismos citados en la Tabla 4 se usan al menos 2 placas de Petri. Extender un volumen medido, no inferior a 0,1 mL de la muestra preparada sobre la superficie del medio. Incubar y contar.

#### b.3 Método del número más probable (NMP). (USP 36).

La precisión y la exactitud del método del NMP son inferiores a las del método de filtración por membrana y a las del método de recuento en placa. Se obtienen resultados poco fiables



particularmente en el recuento de mohos. Por estas razones el método del NMP se reserva para el RMAT cuando no se dispone de ningún otro método. Si la utilización del método está justificada, proceder como sigue.

Preparar una serie de al menos 3 diluciones 1/10 del producto. De cada nivel de dilución se usan 3 partes alícuotas de 1 g o 1 mL para inocular 3 tubos que contienen cada uno 9-10 mL de caldo con hidrolizado de caseína y de soja. Si es necesario, se puede añadir al medio un agente tensoactivo, tal como polisorbato 80 o un inactivador de los agentes antimicrobianos. Por tanto, si se preparan 3 niveles de dilución, se siembran 9 tubos.

Incubar todos los tubos a 30-35 °C durante un máximo de 3 días. Si la lectura de los resultados es difícil o incierta debido a la naturaleza del producto a examinar, efectuar un subcultivo en el mismo caldo, o en agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja, durante 1-2 días a la misma temperatura y utilizar estos resultados. Determinar el número más probable de microorganismos por gramo o mililitro del producto a examinar a partir de la Tabla N°5.

### 10. Resultados e interpretación. (USP 36).

Cuando se verifica la idoneidad del método de filtración por membrana o del método de recuento en placa, debe obtenerse un recuento medio de cualquiera de los organismos de ensayo que no difiera en un factor superior a 2 del valor del control. Cuando se verifica la idoneidad del método del NMP, el valor calculado a partir del inóculo debe estar entre los límites de confianza del 95 por ciento de los resultados obtenidos con el control.

Si los criterios anteriores no pueden ser cumplidos por uno o más de los microorganismos ensayados con cualquiera de los métodos descritos, se utilizan para examinar el producto el método y las condiciones de ensayo que permitan aproximarse más a dichos criterios.



### 11. Ensayo de los productos. (USP 36).

#### 11. a. Cantidad de muestra a ensayar.

Salvo indicación contraria, utilizar 10 g o 10 mL del producto a examinar tomados con las precauciones mencionadas antes. Para los líquidos o sólidos en forma de aerosol, realizar la toma de muestras en 10 envases. Para parches transdérmicos, realizar la toma de muestras en 10 parches.

La cantidad a examinar puede reducirse en el caso de sustancias activas que serán formuladas en las siguientes condiciones: la cantidad por unidad de dosis (por ejemplo, comprimido, cápsula, preparación inyectable) es inferior o igual a 1 mg o la cantidad por gramo o mililitro (para las preparaciones no presentadas en unidades de dosis) es inferior a 1 mg. En estos casos, la cantidad a examinar no es inferior a la cantidad presente en 10 unidades de dosis o en 10 g o 10 mL del producto.

En el caso de productos utilizados como sustancias activas en los que la cantidad de muestra es limitada o el tamaño del lote es extremadamente pequeño (esto es, inferior a 1000 mL o 1000 g), la cantidad a analizar será el 1 por ciento del lote, a menos que se haya prescrito o justificado y autorizado una cantidad menor.

En el caso de productos en los que el número total de entidades constituyentes de un lote es inferior a 200 (por ejemplo, muestras usadas en ensayos clínicos), el tamaño de la muestra puede reducirse a 2 unidades o a 1 unidad si el tamaño del lote es inferior a 100.

Seleccionar aleatoriamente la muestra o muestras del producto a granel o de los envases disponibles de la preparación. Para obtener la cantidad requerida, mezclar el contenido de un número suficiente de envases para formar la muestra.



**Tabla N°5.** Valores del número más probable de microorganismos. (USP 36).

Combinaciones observadas de números de tubos que muestran crecimiento en cada juego.			NMP por gramo o por mililitro de producto.	Límites de confianza de 95%.
Número de g o mL de Producto por tubo.				
0,1	0,01	0,001		
0	0	0	3	0-9,4
0	0	1	3	0,1-9,5
0	1	0	3	0,1-10
0	1	1	6,1	1,2-17
0	2	0	6,2	1,2-17
0	3	0	9,4	3,5-35
1	0	0	3,6	0,2-17
1	0	1	7,2	1,2-17
1	0	2	11	4-35
1	1	0	7,4	1,3-20
1	1	1	11	4-35
1	2	0	11	4-35
1	2	1	15	5-38
1	3	0	16	5-38
2	0	0	9,2	1,5-35
2	0	1	14	4-35
2	0	2	20	5-38
2	1	0	15	4-38
2	1	1	20	5-38
2	1	2	27	9-94
2	2	0	21	5-40
2	2	1	28	9-94
2	2	2	35	9-94
2	3	0	29	9-94
2	3	1	36	9-94
3	0	0	23	5-94
3	0	1	38	9-104



3	0	2	64	16-181
3	1	0	43	9-181
3	1	1	75	17-199
3	1	2	120	30-360
3	1	3	160	30-380
3	2	0	93	18-360
3	2	1	150	30-380
3	2	2	210	30-400

## 11. b. Examen del producto. (USP 36).

### a) Filtración por membrana.

Utilizar un aparato de filtración que permita la transferencia de la membrana al medio. Preparar la muestra utilizando un método que haya demostrado ser adecuado, y transferir la cantidad apropiada a cada una de las 2 membranas filtrantes y filtrar inmediatamente. Lavar cada filtro siguiendo el procedimiento previamente establecido.

Para la determinación del RMAT, transferir una de las membranas filtrantes a la superficie del agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja. Para la determinación del RLMT, transferir la otra membrana a la superficie del agar-agar glucosado de Sabouraud. Incubar la placa de agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja a 30 - 35°C durante 3 - 5 días y la placa de agar-agar glucosado de Sabouraud a 20 - 25°C durante 5 - 7 días. Calcular el número de UFC por gramo o por mililitro de producto.

Para el examen de parches transdérmicos, filtrar por separado el 10 por ciento del volumen de la preparación descrita en I.5 por cada una de 2 membranas filtrantes estériles. Transferir una membrana al agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja para el RMAT y la otra membrana al agar-agar glucosado de Sabouraud para el RLMT.



b) Métodos de recuento en placa.

- Método de vertido en placa.

Preparar la muestra utilizando un método que haya demostrado ser idóneo como se ha descrito previamente. Preparar al menos 2 placas de Petri para cada medio y para cada nivel de dilución. Incubar las placas de agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja a 30 - 35 °C durante 3-5 días y las placas de agar-agar glucosado de Sabouraud a 20 - 25 °C durante 5 - 7 días. Seleccionar las placas correspondientes a una dilución dada y que presentan el mayor número de colonias inferior a 250 para el RMAT y a 50 para el RLMT. Obtener la media aritmética de los recuentos por medio de cultivo y calcular el número de UFC por gramo o por mililitro de producto.

- Método en superficie.

Preparar la muestra utilizando un método que haya demostrado ser idóneo como se ha descrito previamente. Preparar al menos 2 placas de Petri para cada medio y para cada nivel de dilución. Para la incubación y el cálculo del número de UFC proceder como se ha descrito para el método de vertido en placa.

- Método del número más probable.

Preparar y diluir la muestra utilizando un método que haya demostrado ser idóneo como se ha descrito en el apartado 5. Incubar todos los tubos a 30-35 °C durante 3-5 días. Realizar si es necesario un subcultivo, utilizando el procedimiento previamente establecido. Para cada nivel de dilución, anotar el número de tubos que presentan crecimiento microbiano. Determinar el número más probable de microorganismos por gramo o mililitro del producto a examinar a partir de la Tabla 5.



### 11. c. Interpretación de los resultados. (USP 36).

El recuento de microorganismos aerobios totales (RMAT) se considera igual al número de UFC encontrado utilizando agar-agar con hidrolizado de caseína y de soja; si en este medio se detectan colonias de hongos, se contabilizan como parte del RMAT. El recuento de levaduras / mohos combinados totales (RLMT) se considera igual al número de UFC encontrado utilizando agar-agar glucosado de Sabouraud; si en este medio se detectan colonias de bacterias, se contabilizan como parte del RLMT. Si se espera que el RLMT sobrepase el criterio de aceptación debido al crecimiento bacteriano, puede usarse agar-agar glucosado de Sabouraud que contenga antibióticos. Si el recuento se efectúa por el método del NMP, el valor calculado es el RMAT.

El criterio de aceptación en materia de calidad microbiológica, se interpreta como sigue:

- $10^1$  UFC: número máximo aceptable = 20;
- $10^2$  UFC: número máximo aceptable = 200;
- $10^3$  UFC: número máximo aceptable = 2000, y así sucesivamente.

### Ensayo de Microorganismos Específicos. (USP 36).

Los métodos descriptos en el presente ítem son los descriptos por la Farmacopea de los Estados Unidos Americana.

La preparación de las muestras se efectúa como se describe en el ítem de recuento de microorganismos. Si el producto a examinar posee actividad antimicrobiana debe ser, en la medida de lo posible, eliminada o neutralizada como se ha descripto en el ítem de recuento de microorganismos. Si se utilizan sustancias tensioactivas para la preparación de las muestras, debe demostrarse la ausencia de toxicidad para los microorganismos y su compatibilidad con los inactivadores utilizados.



Debe establecerse la capacidad del ensayo para detectar microorganismos en presencia del producto a examinar. Debe confirmarse la idoneidad del método cada vez que se introduzca alguna modificación en la realización del ensayo, o en el producto, que pueda influir en los resultados.

Preparación de las cepas de ensayo. (USP 36).

Utilizar suspensiones estables provenientes de colecciones reconocidas de las cepas de ensayo. Se deben aplicar técnicas de mantenimiento del cultivo del lote de siembra (sistemas de lote de siembra) de modo que los microorganismos viables usados para la siembra hayan experimentado como máximo 5 pases a partir del lote de siembra primario original.



## DISEÑO METODOLÓGICO

**TIPO DE ESTUDIO:** El presente estudio es de tipo experimental.

**ÁREA DE ESTUDIO:** El área de estudio corresponde Farmacias Botánicas de la ciudad de León y el Laboratorio de Control Microbiológico del Departamento de Farmacia Industrial de la U.N.A.N.- León.

**POBLACIÓN DE ESTUDIO:** Productos Limpia Colon a Base de Productos Naturales más Comercializados por Centros Naturistas de la Ciudad de León.

**MUESTRA:** La muestra consiste en 6 productos limpia Colon, pertenecientes a los productos no obligatoriamente estériles elegidos, que más se comercializan en los centros naturistas de la Ciudad de León.

**MUESTREO:** Los productos para el análisis fueron obtenidos a través de su compra en Farmacias de Productos Naturales de la Ciudad de León.

### CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

1. Que sean Productos Limpia Colon.
2. Que más se comercialicen en la Ciudad de León.
3. Que estén compuestos por dos principios activos de Origen Natural.

### CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:

1. Que sea cualquier tipo de productos no Productos Limpia Colon.
2. Que no sean Fitofármacos.

**PROCEDIMIENTO PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN:** Mediante una entrevista realizada a los dueños de centros naturistas de la ciudad de León, por medio de



una Ficha (Ver Anexo 3), nos orientamos cuáles eran los Productos de mayor demanda por la población, procediendo a comprar las seis muestras de Productos Naturales más comercializadas de un mismo número de lote para realizar el ensayo.

Las fuentes de información que utilizamos fueron de tipo Secundaria:

- Monografías.
- Libros.
- Internet.
- Farmacopeas.

**Tabla N°6.** Materiales, equipos y reactivos usados.

Materiales.	Equipos.	Reactivos.
Beaker (250 mL, 500 mL).	Balanza analítica (Gibertini).	Alcohol etílico 70 %.
Espátula.	Contador de colonias (Leica Quebec Darkfield Colony Counter).	Agua destilada.
Agitador Vortex.	Espectrofotómetro.	Agar TSA.
Probeta ( 100 mL).	Cocina (Isotemp).	Solución salina de NaCl.
Balón Aforado ( 100 mL , 1000 mL).	Refrigerador.	Fosfato monobásico de potasio.
Algodón.	Incubadora (Precision mechanical convection incubator).	Brain Heart infusión.
Papel aluminio.	Autoclave de Vapor (All American).	Selenite cystine broth.
Placas Petri.	Horno.	Tryptic soya Agar.
Gradillas metálicas.	Mechero.	Cetrimide Agar.
Asa de Henle.	pHmetro (CRISON).	EMB Agar.
Tubos de ensayo.	Microscopio Óptico de Campo Claro ( American Optical).	Baird – Parker Agar.
Erlenmeyer ( 250 mL).		SS – Agar.
Pipetas Volumétricas ( 2 mL, 5 mL, 10 mL).		Agar Sabouroud Dextrosa.
		Telarito de potasio.
		Safranina.



		Cloro 3%.
		Yema de huevo.
		Cristal violeta.
		Solución de lugol.
		Alcohol de 98%.
		Indol.
		Rojo de Metilo.

**VARIABLES DE ESTUDIO:**

- Recuento de Bacterias Aerobias Mesófilas.
- Recuento Total Combinado de Hongos y Levaduras.
- Identificación de microorganismos patógenos objetables.

**OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES**

Variables.	Concepto.	Indicador.	Valor.
<b>Recuento de bacterias aerobias mesófilas (hocking a. 2001).</b>	El recuento de microorganismos mesófilos aeróbicos, conocido también como recuento de placas aeróbicas (APC), es el método más usual para la estimación del número de microorganismos viables en productos de consumo humano.	(+) Presencia. (-) Ausencia.	No > 100 UFC/g
<b>Recuento total combinado de hongos y levaduras (hocking a. 2001).</b>	Método que se basa en inocular una cantidad conocida de muestra, en un medio de cultivo selectivo específico, aprovechando la capacidad de este grupo microbiano de utilizar como nutrientes a los polisacáridos que contiene el medio.	(+) Presencia (-) Ausencia	No > 100 UFC/g
<b>Identificación de microorganismos patógenos objetables.</b>	Metodología precisa que permite la identificación de los microorganismos implicados en procesos de contaminación asociados a infecciones o de aquellos que tienen relación con el hombre.	(+) Presencia. (-) Ausencia.	Ausencia.



## PROCEDIMIENTOS.

### **Límite microbiano.**

#### **Obtención de la muestra para el ensayo:**

Las muestras utilizadas en este estudio las obtuvimos en las diferentes farmacias herbolarias a las cuales visitamos, obteniendo un total de 3 productos de cada una de las muestras.

#### **Límite Microbiano**

Realizar la determinación en condiciones diseñadas para evitar la contaminación microbiana extrínseca del producto a examinar. Las precauciones a tomar para evitar la contaminación deben ser tales que no afecten a ningún microorganismo que deba detectarse en la prueba.

Si el producto a examinar posee actividad antimicrobiana, ésta debe eliminarse o neutralizarse en la medida de lo posible. Si se usan inactivadores para este fin, se debe demostrar su eficacia y la ausencia de toxicidad para los microorganismos.

Si se emplean sustancias tensoactivas en la preparación de la muestra, se debe demostrar la ausencia de toxicidad para los microorganismos y su compatibilidad con cualquier inactivador usado.

Prueba de promoción del crecimiento, aptitud del método de recuento y controles negativos.

Se debe establecer la aptitud de la prueba para detectar microorganismos en presencia del producto a examinar.

Se debe confirmar la aptitud si se introduce un cambio en la realización de la prueba o en el producto que pudiera afectar los resultados del análisis.



### **Control negativo.**

Para verificar las condiciones de prueba, realizar un control negativo usando el diluyente seleccionado en lugar de la preparación de prueba. No debe observarse crecimiento de microorganismos. Asimismo, realizar un control negativo al analizar los productos según se indica en Pruebas de Productos. Es necesario investigar cualquier falla en el control negativo.

### **Promoción del crecimiento de los medios.**

Analizar cada partida de medio listo para usar y cada partida de medio preparado a partir de medio deshidratado o de los ingredientes indicados.

Inocular porciones/placas de Caldo Digerido de Caseína y Soja y Agar Digerido de Caseína y Soja con un número pequeño (no más de 100 UFC) de los microorganismos indicados empleando una porción/placa individual de medio para cada uno. Inocular placas de Agar Sabouraud Dextrosa con un número pequeño (no más de 100 UFC) de los microorganismos indicados, empleando una placa individual de medio para cada uno. Incubar de acuerdo con las condiciones descritas. (Ver Tabla 8).

Para medios sólidos, el crecimiento obtenido no debe diferir en un factor mayor de 2 a partir del valor calculado para un inóculo estandarizado. Para un inóculo recién preparado, se produce un crecimiento de microorganismos comparable al obtenido anteriormente con una partida de medio analizada y aprobada previamente. Los medios líquidos son adecuados si se produce un crecimiento claramente visible de microorganismos comparable al obtenido anteriormente con una partida de medio analizada y aprobada previamente.

### **Recuento de organismos mesófilos aerobios.**

Para el recuento de organismos mesófilos aerobios existen dos métodos:

- Método en placa.
- Método en tubo (NMP).



Siendo el primer método el utilizado en este análisis.

### **Método vertido en placa.**

Se Efectuaron las diluciones decimales necesarias para que 1ml. Contenga entre 10 y 100 UFC/mL.

- Se preparó el pool de cada uno de las muestras en estudio, que consistió en tomar 3.5g de cada producto limpia colón, hasta tener un total de 10g que se llevaron a un Erlenmeyer que contenía 90 mL de solución amortiguadora de Fosfato pH  $\pm 7.2$ , para obtener 100 mL ( $10^{-1}$ ). De esta solución se extrajo 1 mL y se trasladó a un tubo de ensayo que contenía 9 mL de la solución amortiguadora de Fosfato  $\pm 7.2$ , obteniendo una segunda dilución ( $10^{-2}$ ). Se realizaron diluciones decimales sucesivas  $10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$  y  $10^{-6}$  para que 1 mL permita obtener entre 30 y 300 colonias.
- Se pipeteó 1 mL de las diluciones  $10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5}$  y se transfirieron a dos placas petri estériles, agregamos inmediatamente a cada placa de 15 – 20 mL de Agar DCS y a otras dos placas Petri estériles para Hongos Filamentosos y Levaduras, Con Agar Sabouraud por cada dilución, previamente fundido y enfriado a una temperatura de aproximadamente de  $45^{\circ}\text{C}$ .
- Cubrimos las placas petri. Y Mezclamos las muestras rotando suavemente las placas sobre una superficie plana (técnica del ocho) y dejamos solidificar el contenido a temperatura ambiente.
- Invertimos las placas e incubamos durante 24 - 48 hrs. a una temperatura de 30 a  $35^{\circ}\text{C}$ .
- Una vez finalizada la incubación, examinamos las placas para verificar el crecimiento de microorganismos.
- Con un contador de colonias, contamos el número de colonias y expresamos el promedio de las dos placas en términos del número de microorganismos por g (UFC/g) de muestra y multiplicarlo por el factor de dilución.



### **Criterio de aceptación.**

El producto se acepta si se observan UFC en cantidades menores de 100 UFC por gramo o por mL de muestra en la dilución 1:10 y los resultados se expresan: Menor de 100 UFC/g o mL de muestra.

### **Recuento de Hongos Filamentosos y Levaduras.**

Proceder igual como se indica en el Recuento de Organismos Mesófilos Aerobios, con la excepción que se utiliza el medio Agar Dextrosa-Sabouroud. Incubar a 22 - 25°C durante 5 a 7 días.

Después del periodo de incubación contar el número de UFC existentes con ayuda del contador de colonias. Informar el número de UFC/g o mL de muestra tomando en cuenta el factor de dilución de la muestra.

### **Criterio de aceptación.**

El producto se acepta si hay ausencia de colonias o la cantidad existente es menor de 10 colonias (UFC por g o mL) de muestra. El resultado se expresa: Menor de 10 colonias por g o mL de muestra.

### **Determinación de microorganismos patógenos.**

#### *Pseudomona aeruginosa.*

- Pesar 10g o medir 10ml de muestra con 90 ml de Caldo Digerido de Caseína - Soya. Mezclar e incubar a 35 - 37°C durante 48 a 72 horas.
- Examinar el medio visualmente. Si hay crecimiento a partir del caldo hacer una resiembra en Agar Cetrimide e incubar los platos en posición invertida a 35 - 37°C durante 24 a 48 horas.



### **Interpretación de los resultados.**

Si al examinar los platos del paso 2, ninguno contiene colonias el producto a examinar, satisface el ensayo. Si aparecen colonias formadas por bacilos Gram negativos, generalmente verdosas y fluorescentes se efectúa la prueba de la oxidasa. Si el resultado de la prueba es positiva el producto no satisface el ensayo, Si el resultado es negativo el producto, satisface el ensayo.

### **Prueba de la Oxidasa (Examen de Pigmentos) para *Pseudomona aeruginosa*:**

Se humedecen pequeñas tiras del papel filtro en solución acuosa al 1% de tetrametil- p-fenilendiamina u oxalato, (algunos papeles filtros dan color azul y no deben usarse) el cual se deja secar o se utiliza húmedo.

Se toma una pequeña porción del cultivo joven con un alambre de platino o una varilla de vidrio y se frota sobre el papel filtro (los cultivos viejos no son confiables). La aparición de un color azul dentro de los 30 segundos siguientes es una reacción positiva a la oxidasa.

### *Staphylococcus aureus.*

- Pesar 10g o medir 10ml de muestra con 90ml de caldo digerido de caseína - soya. Mezclar e incubar a 35°C durante 48 a 72 horas.
- Examinar el medio visualmente. Si hay crecimiento a partir del caldo, hacer una resiembra por estría cruzada en Agar BAIR PARKER e incubar los platos en posición invertida a 35 - 37°C durante 24 a 48 horas.

### **Interpretación de los resultados.**

La ausencia de crecimiento de microorganismos indica que el producto satisface el ensayo. La aparición de colonias negras de cocos Gram positivos agrupados en racimos y a menudo rodeada de una zona clara, puede constituir un indicio de la presencia de *Staphylococcus aureus*. En este caso se realiza la prueba de la coagulasa para confirmar. Si el resultado de la prueba es positivo el producto no satisface el ensayo. Si el resultado es negativo, el producto satisface el ensayo.



### Prueba de la coagulasa.

- Se añaden 0.2 ml de plasma con oxalato o heparina a 0.8 ml de Caldo Nutritivo sin glucosa en un tubo pequeño.
- Se siembra con el *Staphylococcus* sospechoso y se incuba a 37°C en baño María durante 6 horas. Deben incluirse en la prueba controles conocidos positivo y negativo. El *Staphylococcus aureus* puede formar un coágulo, gelificar todo el contenido del tubo o producir una trama roja de fibrina. En este caso se considera el resultado de la prueba: positivo.
- La prolongación de la incubación del tubo con plasma puede dar lugar a la desaparición del coágulo por digestión (fibrinólisis). Por tanto, se debe tener mucho cuidado y respetar el tiempo de incubación.

### *Salmonella.*

- Pesar 10 g o medir 10 ml de muestra y añadir a un volumen de 90 ml de Caldo Digerido de Caseína Soya e incubar a 35 - 37°C durante 48 - 72 horas.
- Examinar el medio para ver si hay crecimiento (turbidez). Si lo hay agitar el medio y tomar 1ml y añadirlo a tubos de ensayo (2) que contienen 10 ml de Caldo Selenito-Cisteína y Caldo Tetrionato. Mezclar e incubar 24 horas a 35 - 37°C.
- Una vez incubado con un asa se toma una muestra a los tubos de ambos caldos y se efectúa una resiembra al menos en dos medios sólidos diferentes. Se puede elegir entre los siguientes: Agar Verde Brillante, Xilosa- Lisine-Dexosicolato y Agar Citrato-Dexosicolato.
- Invertir los platos e incubar a 35 - 37°C, durante 48 - 72 horas.

### Interpretación de los resultados.

La aparición de cultivos con las siguientes características indica la probable presencia de bacterias del género *Salmonella*:

- Agar citrato - Dexosicolato: Colonias bien desarrolladas, incoloras.



- Agar Xilosa – Lisina – Dexosicolato: Colonias bien desarrolladas rojas que pueden presentar o no un centro negro.
- Agar Verde Brillante: Colonias pequeñas transparentes, incoloras o de una coloración rosa hasta blanca opaca, a menudo rodeada de una zona rosa o roja.

Si al examinar las placas Petri las colonias formadas no presentan las características descritas anteriormente, se deduce que hay ausencia de Salmonella.

### *Escherichia coli.*

- Pesar 10g o medir 10ml de muestra y añadir a un volumen de 90ml de Caldo Lactosa e incubar a 35 - 37°C durante 48 a 72 horas.
- Examinar el medio para ver si hay crecimiento (turbidez). Si lo hay transferir con un asa al agar Mac Conkey. Incubar de 48 a 72 horas a 35 - 37°C.

### **Interpretación de los resultados.**

Si al examinar las placas se observan colonias de color rojo generalmente sin mucosidad integrada por bacilos gram negativos, esto indica la probable presencia de *Escherichia coli*.

### **PRUEBA IMViC.**

Las pruebas bioquímicas permiten determinar las características metabólicas de las bacterias de objeto de identificación. Algunas son rápidas, ya que evalúan la presencia de una enzima preformada y su lectura varía entre unos segundos hasta unas pocas horas. Otras pruebas requieren para su lectura el crecimiento del microorganismo con una incubación previa de 18 a 48 horas. (Quistián, 2014).



### IMViC

El IMViC se compone de cuatro pruebas: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato. Su finalidad es identificar un organismo del grupo de los coliformes. La presencia de estos indica contaminación fecal.

**Indol:** La prueba del Indol estudia la capacidad de degradar el triptófano con producción de Indol y metabolitos indólicos.

- Positivo: color rojo en la interfase del reactivo y el medio de cultivo.
- Negativo: el color del reactivo revelador permanece incoloro-amarillento.

**Rojo de Metilo:** Estudia la fermentación ácido mixto con producción de ácidos estables en el tiempo.

- Positivo: color rojo.
- Negativo: color amarillo.

**Voges Proskauer:** Estudia la fermentación butanodiólica con formación de un metabolito intermediario neutro.

- Técnica: Sembrar la muestra en el medio e incubar de 24 a 48h a 37 °C. Según el volumen del medio añadir a partes iguales el volumen de los reactivos, agitar para exponer el medio al O<sub>2</sub>.
- Positivo: color rojo-rojizo en menos de 1h.
- Negativo: amarillo en superficie.

**Citrato:** Estudia la capacidad de utilizar el citrato como única fuente de carbono. (Ramírez, 2014).

- Positivo: crecimiento y color azul en el pico, alcalinidad.
- Negativo: el medio permanece de color verde debido a que no hay desarrollo bacteriano y no hay cambio de color.



### **TINCIÓN DE GRAM.**

La tinción de Gram es un procedimiento rápido que se usa para buscar la presencia de bacterias en muestras de tejidos y caracterizarlas como Gram positivas o Gram negativas en base a las propiedades químicas y físicas de sus paredes celulares. La tinción de Gram casi siempre debe realizarse como el primer paso en el diagnóstico de una infección bacteriana.

#### **Coloración de Gram:**

##### **Composición:**

- Está constituido por Cristal Violeta que es un colorante primario o básico, que se une a la pared celular bacteriana. (color azul o violeta).
- El Lugol es la solución de yodo, utilizado como mordiente, el cual facilita la adhesión del cristal violeta a la pared celular.
- Alcohol o Acetona: decolorante.
- Safranina o fucsina de Gram: colorante secundario, que imparte una coloración de contraste o contracolor (color rojo o rosado).

#### **Fundamento de la coloración de Gram.**

Un frotis es tratado con una solución de cristal violeta el cual se une a las paredes celulares bacterianas, luego de un tratamiento con lugol, algunas bacterias debido a la naturaleza química de sus paredes celulares, poseen la capacidad de retener el cristal violeta, aún luego del tratamiento con un decolorante orgánico (alcohol o acetona). Tales bacterias se denominan Gram positivas. Las bacterias Gram negativas presumiblemente debido a su mayor contenido lipídico en su pared celular, pierden la coloración primaria del cristal violeta aparecen rojas o rosadas al microscopio, habiendo fijado la safranina como colorante de contraste a sus paredes celulares, las Gram positivas aparecen al microscopio de color azul intenso o violeta.



### Utilidad de la coloración de Gram.

Coloración diferencial, utilizada para demostrar las propiedades tintoriales de todos los tipos de bacterias.

### TÉCNICAS DE LA COLORACIÓN DE GRAM.

- Preparar un extendido fino del material en estudio y dejarlo secar al aire.
- Fijar el material al portaobjeto de modo que no sea arrastrado durante el proceso de tinción, pasando el portaobjeto 3 o 4 veces por la llama de un mechero de Bunsen.
- Colocar el preparado sobre un soporte de tinción y cubrir la superficie con solución de Cristal Violeta por 1 minuto.
- Pasando el minuto, lavar con agua destilada.
- Cubrir el preparado con Lugol Gram por 1 minuto. Lavar nuevamente con agua destilada.
- Sostener el portaobjeto entre el pulgar y el índice y bañar la superficie con unas gotas del decolorante: alcohol o acetona hasta no arrastrar más colorante violeta. Esto, requiere habitualmente unos 30 segundos o menos.
- Lavar con agua destilada y colocar nuevamente el portaobjeto sobre el soporte. Cubrir la superficie con Safranina (contracolor), durante uno a dos minutos. Lavar con agua.
- Colocar el preparado en un soporte de tinción en posición vertical, dejando que escurra el exceso de agua y que se seque el extendido.
- Examinar el extendido al microscopio con objetivo de inmersión (100X). Las bacterias Gram positivas se observan de color azul intenso o violeta. Las bacterias Gram negativas se observarán de color rojo o rosado.



## RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

Para la realización de los análisis limpiamos cada uno de los productos con alcohol 70% y algodón, para después marcarlos de la siguiente manera:

**Tabla N°7.** Códigos asignados a cada una de las muestras en estudio.

Código Asignado.	Muestras.	Ilustraciones.
M-01	Digestit Fibra.	
M-02	Fibra-Flat.	
M-03	Sábila y Menta.	
M-04	Super Limpiador del Colon.	



<b>M-05</b>	<b>Moring Fibra.</b>	
<b>M-06</b>	<b>Linaza+Moringa.</b>	

Al realizar un examen macroscópico de las características externas de cada uno de los productos, se observa que cada uno de los productos cumplen con los requerimientos de calidad en relación al etiquetado (nombre del producto, número de lote, fecha de vencimiento, nombre o logotipo del laboratorio fabricante) de cada una de las muestras en estudio que son indispensables según la RTCA 11.04.41:06, mientras que, uno de los requerimientos que el RTCA 11.03.64:11, pide es que lleve el número de registro sanitario, tanto del país en la que se produce el producto, así como también del país en donde se comercializa.

Al realizar el método de Límite Microbiano se realizaron siembras como indica el procedimiento de la técnica en cajas Petri estériles en profundidad y superficie y en tubos inclinados. (Ver Tabla 8). Se detalla el tiempo, temperatura y tipo de siembra correspondiente a cada prueba de identificación para los diferentes microorganismos analizados.



**Tabla N°8.** Tiempo, temperatura y tipo de siembra de microorganismos analizados.

Microorganismo.	Temperatura °C.	Tiempo.	Siembra.
<b>BAM.</b>	37°C	48hrs/ Oscuridad.	Superficie.
<b>Hongos y levaduras.</b>	20–25°C.	7 días / Oscuridad.	Superficie.
<i>Pseudomona aeruginosa.</i>	37°C.	48 Hrs.	Superficie.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	37°C.	48 Hrs.	Superficie.
<i>Escherichia coli.</i>	37°C.	48 Hrs.	Superficie.
<i>Salmonella spp.</i>	37°C.	48 Hrs.	Superficie.

Después del periodo de incubación correspondiente, se realizó la lectura de resultados. (Ver Tabla 9). Describe la interpretación de resultados y características de las colonias para las pruebas de recuento combinado de hongos y levaduras, y el recuento total de Mesófilos Aerobios. Además de la interpretación de resultados y características de las colonias para las pruebas de identificación de patógenos.



**Tabla N°9.** Interpretación de resultados y características de las colonias para las pruebas de recuento de BAM, hongos y levaduras y microorganismos patógenos.

Microorganismo.	Medio de cultivo.	Características de las colonias.	Interpretación.
<b>BAM.</b>	Agar Digerido Caseína y Soya.	Recuento total (todo tipo de colonia).	<b>Acceptable:</b> $\leq 10 \times 10^1$ UFC/g o mL. <b>No Acceptable:</b> $> 10 \times 10^1$ UFC/g o mL.
<b>Hongos y levaduras.</b>	Agar Sabouroud.	<b>Levaduras:</b> Colonias convexas. <b>Mohos:</b> Colonias filamentosas.	<b>Acceptable:</b> $\leq 10 \times 10^1$ UFC/g o mL. <b>No Acceptable:</b> $> 10 \times 10^1$ UFC/g o mL.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Agar Bair Parker.	Colonias Negras.	<b>Acceptable:</b> Ausencia. <b>No acceptable:</b> Presencia.
<i>Pseudomona aeuroginosa.</i>	Agar Cetrimide.	Se observó Colonias Incoloras.	<b>Acceptable:</b> Ausencia. <b>No acceptable:</b> Presencia.
<i>Escherichia coli.</i>	Agar MacConkey.	Se observó Colonias Incoloras.	<b>Acceptable:</b> Ausencia. <b>No acceptable:</b> Presencia.
<i>Salmonella spp.</i>	Agar XLD.	Se observó Colonias Incoloras.	<b>Acceptable:</b> Ausencia. <b>No acceptable:</b> Presencia.



**Tabla N°10.** Resultados de mesófilos aerobios, hongos y levaduras de las muestras analizadas.

Código asignado	BAM		Mohos y levaduras.	
	24 Hrs.	48 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.
<b>M-01</b>	< 100 UFC/g	> 300 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g
<b>M-02</b>	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g
<b>M-03</b>	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g
<b>M-04</b>	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g
<b>M-05</b>	< 100 UFC/g	> 300 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g
<b>M-06</b>	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g	< 100 UFC/g

En relación al crecimiento de BAM, después de las 24 hrs, no se evidencio crecimiento en ninguna de las muestras. Por otro lado, pasada las 48 hrs. de incubación se demostró crecimiento > 300 UFC/g, en las muestras M-01 y M-05, lo que se demuestra que no son aptas para su consumo de acuerdo a los criterios señalados en la USP 36. Así mismo, en el recuento combinado de Hongos y Levaduras de las 6 muestras, a los 7 días de incubación presentaron crecimiento < 100 UFC/g.

Por lo tanto, las muestras M-02, M-03, M-04 Y M-06, son aptas para su utilización de acuerdo con los criterios establecidos en la USP 36, ya que no presentaron evidencia de crecimiento de BAM y tampoco de Hongos y levaduras.



Tabla N°11. Resultados de patógenos de las muestras analizadas.

Código asignado	<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomona A.</i>		<i>S.aureus.</i>		<i>Salmonella.</i>	
	24 Hrs.	48 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.	24 Hrs.	48 Hrs.
<b>M-01</b>	-	-	-	-	+	+	-	-
<b>M-02</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>M-03</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>M-04</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>M-05</b>	-	-	-	-	+	+	-	-
<b>M-06</b>	-	-	-	-	-	-	-	-
<b>(+) Presencia de Crecimiento.</b>								
<b>(-) Ausencia de Crecimiento.</b>								

Para la identificación de las bacterias patógenas, se tomaron en cuenta, las características de crecimiento en cuanto a su forma, superficie, borde, color aspecto, elevación y posibles cambios en el medio de cultivo en cada una de las bacterias en estudio.

La evidencia de *Staphylococcus*, en las muestras M-01 y M-05, se observó de manera macroscópica en las placas de Agar Bair Parker donde las colonias se pudieron examinar de la siguiente forma: redondas, de bordes lisos, convexas, húmedas, brillantes, negras, con un borde blanco fino, rodeadas de una zona opaca y de un halo claro, que al contrastar con la bibliografía correspondiente, se demuestra que hay presencia de *Staphylococcus*, destacando que la reacción de este medio de cultivo con el *Staphylococcus*, se debe a que el cloruro de litio y el telurito potásico que forman parte del medio, inhiben el desarrollo de la flora competitiva.



Por otro lado, el piruvato sódico y la glicina favorecen el crecimiento de los *Staphylococcus*, por lo cual, para confirmar esta presencia e identificar qué tipo de *Staphylococcus* está presente ya sea *Staphylococcus aureus* o *Staphylococcus Epidermides*, procedimos a realizar la prueba de la coagulasa (Ver Procedimiento descrito en Diseño Metodológico). Observándose un coágulo, gelificando todo el contenido del tubo de ensayo, dándonos esta prueba positiva, confirmando la presencia del microorganismo patógeno *Staphylococcus aureus*, en la M-01 y M-05.

Al mismo tiempo, se examinaron el resto de Placas Petri de la M-02, M-03, M-04 Y M-06 en los respectivos Agar MacConkey, Cetrimide, Bair Parker y XLD, observándose la presencia de colonias incoloras con forma circular, puntiforme, convexas y planoconvexa en cada una de las placas, muy distintas a lo que se analiza en la bibliografía consultada en lo que respecta a cada medio de cultivo. Por lo que se procedió a realizar la prueba IMViC que consiste en cuatro pruebas bioquímicas, empleándose fundamentalmente para la identificación de las Enterobacterias.

Cabe de destacar que, dependiendo de las condiciones, las enterobacterias, pueden realizar un metabolismo aerobio (si disponen de oxígeno), realizar una respiración anaerobia (si hay nitratos u otro aceptor de electrones) y distintas fermentaciones.



**RESULTADOS DE PRUEBAS IMViC.**

**Tabla N° 12.** Resultados de las muestras

Muestras	I	M	Vi	C	H <sub>2</sub> S	Ilustración
M-01	-	+	+	-	-	
M-02	-	+	-	-	-	
M-03	-	+	-	-	-	
M-04	-	+	-	+	-	
M-05	-	+	+	-	-	
M-06	-	+	-	-	-	
<b>(+) Positivo.</b>						
<b>(-) Negativo.</b>						



### **Prueba Rojo de Metilo (M).**

La pluripeptona (fuente de carbono y nitrógeno para el desarrollo bacteriano) aporta los nutrientes necesarios para el desarrollo bacteriano y la glucosa es el hidrato de carbono fermentable. Según la vía utilizada, se originarán productos finales ácidos (ácido láctico, ácido acético, ácido fórmico), o productos finales neutros (acetil metil carbinol).

El metabolismo bacteriano, podría ser reconocido por la adición de un indicador como rojo de metilo, para revelar la presencia de productos ácidos. (González Pellicer, A. 2013).

La prueba dio positiva (coloración roja en la superficie), en todas las muestras en estudio, donde el microorganismo presente tiene la capacidad de realizar fermentación ácido – mixta, los microorganismos que pueden realizar este tipo de fermentación están: *E. Coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella typhimurium* y *Critobacter Freundii* que posiblemente se encuentren presentes en estas muestras.

### **Prueba Voges Proskauer (Vi).**

Voges y Proskauer, describieron una coloración rojiza que aparecía después de adicionar hidróxido de potasio a los cultivos de ciertos microorganismos en medio con glucosa. Esta coloración se debe a la oxidación del acetilmetil carbinol a diacetilo el cual reacciona con la peptona del medio para dar un color rojo. (González Pellicer, A., 2013).

En esta prueba, se obtuvieron resultados positivos en la M-01 y M-05, debido al viraje de coloración roja, por lo tanto, el microorganismo presente es capaz de producir acetilmetilcarbinol a partir de la fermentación butilenglicólica de la glucosa.



### **Prueba de Ácido Sulhídrico (H<sub>2</sub>S).**

La actividad de las bacterias sobre aminoácidos que contienen azufre, frecuentemente produce liberación de sulfhídrico, lo cual se demuestra empleando sales de metales pesados como el hierro. El sulfhídrico reacciona con tales metales dando un crecimiento de colonias negras al medio de cultivo. (González Pellicer, A., 2013). En la prueba realizada no se observó crecimiento, lo que significa que el microorganismo presente no contiene metales pesados que puedan reaccionar con el sulfhídrico.

### **Prueba de Citrato (C).**

El fosfato monoamónico es la única fuente de nitrógeno y el citrato de sodio es la única fuente de carbono. Ambos componentes son necesarios para el desarrollo bacteriano. Para la prueba del citrato, es positiva en la M-04 debido a que se observó el viraje a color azul, lo que significa que el microorganismo presente es capaz de utilizar el citrato como única fuente de carbono, entre los posibles microorganismos que son capaces de utilizar al citrato como fuente de carbono están: *Klebsiella pneumoniae* y *Salmonella typhimurium*.

### **Prueba de Indol (I).**

La prueba del Indol estudia la capacidad de degradar el triptófano con producción de Indol y metabolitos indólicos. (Ramos, 2014). Esta prueba resultó negativa, ya que no se observó anillos rojos en la superficie del caldo, al momento de adicionar el reactivo, esta permaneció incoloro-amarillento, por lo que el microorganismo no contiene alto contenido de L-triptófano.

Dado el resultado anterior de las Pruebas IMViC, las M-01 y M-05 dieron un resultado de +, +, -, - (Ver Tabla N° 12) confirmando la presencia de *Staphylococcus aureus*.

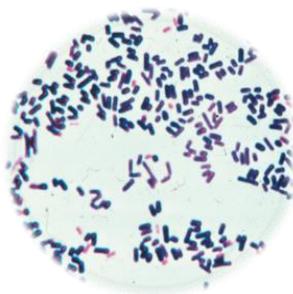


Por otra parte, las demás muestras analizadas no demostraron la presencia específica alguna de Enterobacterias, cabe de destacar que, en la M-04 dio positivo en la Prueba Rojo de Metilo y Prueba de Citrato donde el único microorganismo que puede estar presente en esta muestra es *Salmonella typhimurium*, ya que este microorganismo es capaz de realizar fermentación ácido – mixta y de utilizar el citrato como única fuente de carbono.

Por consiguiente, se realizó un procedimiento rápido, denominado tinción de Gram, que se usa para buscar la presencia de bacterias en muestras de tejidos y seguidamente caracterizarlas como Gram positivas o Gram negativas.

### **Resultados y análisis de resultados de la tinción de Gram.**

Al realizar la Tinción de Gram (Ver Procedimiento descrito en Diseño Metodológico), dio como resultado la presencia de bacilos Gram positivos con esporas terminales.



**Bacilos Gram positivos con esporas terminales.**

Para identificar el tipo de bacilo presente en las muestras, se realizan diversas pruebas Bioquímica entre ellas están: prueba de catalasa, prueba de oxidasa, motilidad y prueba de O/F (Oxidación – Fermentación), pero el Departamento de Farmacia Industrial en el área del Laboratorio de Control Microbiológico de la U.N.A.N.- León, no cuenta con los medios para realizar la prueba de O/F.



Por otro lado, los bacilos Gram positivos formadores de esporas terminales son de las especies de *Bacillus* y *Clostridium*. Estos bacilos debido a su capacidad para formar esporas, pueden vivir en el ambiente por varios años. Si bien las especies de *Bacillus* son aerobias, las especies de *Clostridium* son anaerobias. (Jawetz, E., Melnick, J., y Adelberg, E., 2005).

De las muchas especies de *Bacillus* y géneros afines que aún no han sido bien clasificadas en la microbiología, la mayoría no causa enfermedades. El género *Clostridium* es extremadamente heterogéneo y se han descrito más de 190 especies. Sigue creciendo la lista de microorganismos patógenos, así como nuevas especies aisladas a partir de heces humanas, las cuales siguen sin caracterizar. (Jawetz, E., Melnick, J., y Adelberg, E., 2005).



## CONCLUSIÓN

La evaluación microbiológica de los productos de consumo humano permite conocer de manera indirecta la efectividad de los sistemas de calidad empleados en las industrias que elaboran dichos productos, determinando si las condiciones de la materia prima, el personal, el equipo y los procedimientos de manufactura cumplen con los requisitos de calidad y son aptos para la fabricación de productos inocuos al consumidor.

Los productos contemplados para esta investigación, basados en resultados obtenidos después de la realización del límite microbiano, el cual es un ensayo para la determinación de microorganismos en productos farmacéuticos, presentaron una carga microbiana importante, por lo que podemos concluir que:

Las muestras M-01 (Digestit Fibra) y M-05 (Moring Fibra) evidencian la presencia del patógeno *Staphylococcus aureus*, por lo tanto, no cumplen con las especificaciones detalladas en la USP 36, estas muestras no son aptas para su utilización ya que causarían daños en la salud de las personas, ya que los Fitofármacos permiten un máximo de carga microbiana, pero debe contemplarse la ausencia de patógenos.

Por otro lado, la M-02 (Fibra-Flat), M-03 (Sábila y Menta), M-04 (Super Limpiador del Colon) y M-06 (Linaza+Moringa), cumplen con las especificaciones detalladas en la USP 36 en cuanto al recuento de Bacterias aerobias mesófilas y recuento combinado de hongos y levaduras debido a que las cantidades encontradas en el ensayo, son permitidas, por lo tanto, no comprometen la salud de la población. Cabe mencionar que estos fitofármacos anteriormente mencionados, no poseen bacterias patógenas que pueden producir una enfermedad adicional a la persona al consumir el producto.

La importancia de realizar este tipo de ensayos radica principalmente en dar respuesta a las patologías de los pacientes con productos eficaces y seguros.



### **RECOMENDACIONES.**

Al MINSA el cual debe realizar una revisión estricta y continua desde el punto de vista microbiológico a cerca del cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufacturas (BPM) a lo largo de todo el proceso de elaboración de los productos naturales, así como del personal que participa en este.

Al Laboratorio de Control Microbiológico del Departamento de Farmacia Industrial de la UNAN-León, al mejoramiento de sus instalaciones.

Así mismo, se debe tener presente que todo Fitofármaco debe ser considerado como un medicamento al que hay que exigirle el cumplimiento de los parámetros propios de los mismos como son: Calidad, Seguridad y Eficacia. Si una vez realizado los controles de calidad a los productos en estudio estos no cumplen con las especificaciones, no deben ser comercializados y deben ser rechazados de inmediato.

Con el estudio realizado no es posible generalizar que todos los productos de origen natural (limpia colon) distribuidas por los centros botánicos tanto nacionales como internacionales no presentan contaminación de tipo microbiológica y puedan causar algún mal al consumidor, pero puede ser una referencia para que pueda consultarse, respecto a la calidad de este tipo de productos que permiten cierta cantidad de microorganismos aprobados por la USP 36.



## BIBLIOGRAFÍA.

Anderson, L. Barnes, J., Phillipson, D. (2005). “Guía para los profesionales de la Salud”. Plantas Medicinales. Primera edición. Pharma editores. Barcelona.

Ann González, R., Gómez, M. (2011). “Así ataca el cáncer de colon”. [En Línea]. Disponible en: <https://www.elnuevodiario.com.ni/nacionales/390925-ataca-cancer-colon/>. [Consultado Septiembre, 2017].

Alonso, J. (1998). “Tratado de Fitomedicina. Bases Clínicas y Farmacológicas”. Isis Ediciones SRL. Buenos Aires Argentina.

Archila Jiménez, R. (2009). “Propuesta de un manual de procedimientos microbiológicos para pruebas de límites microbianos en productos farmacéuticos no estériles”. [En Línea]. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/2525/1/16100693.pdf>. [Consultado Septiembre, 2017].

Artusi, L. (2000). “Irradiación de Especies”. Cámara Argentina de Especies. Seminario Ionización de Especies. Salón de Actos CNEA.

Brooks, G., Butel, J., Morse, S. (2011) “Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg”, Editorial El Manual Moderno. México D.F. 25ª Edición. Disponible en: <http://es.slideshare.net/AndresNeiraQuezada7/jawetz-microbiologia-medica-ed-25>. [Consultado Septiembre, 2017].

Cáceres, A. (2010). “Control de calidad microbiológica de plantas medicinales y productos fitofarmacéuticos”. [En Línea]. Disponible en: [http://www.fbioyf.unr.edu.ar/rrii/varios/pdf2010sharapin/sharapin2010\\_caceres-controlcalidad.pdf](http://www.fbioyf.unr.edu.ar/rrii/varios/pdf2010sharapin/sharapin2010_caceres-controlcalidad.pdf). [Consultado Octubre, 2017].



Carrascal, A. Páez A. Burbano, M. (2003). “Manual de Laboratorio”. Microbiología de alimentos. CEJA. Bogotá.

Cebrián, J. “Lino” (2016). [En Línea]. Disponible en: <https://www.webconsultas.com/belleza-y-bienestar/plantas-medicinales/precauciones-con-el-lino>. [Consultado Enero, 2018].

Daniel, H. (1988). “Plantas Medicinales un Resumen de Farmacología”. Tercer Mundo Editores.

Ecoagricultor. (2013). “Menta, usos, propiedades medicinales y contraindicaciones”. [En Línea]. Disponible en: <https://www.ecoagricultor.com/propiedades-y-usos-de-la-menta/>. [Consultado Enero, 2018].

Forysthe, Sthepen, J. (2002). “Higiene de los alimentos, Microbiología y HACCP”. 2da. Ed. Editorial Acribia. S.A. [En Línea]. Disponible en: <http://www.casadellibro.com/libro-higiene-de-los-alimentos-microbiologia-y-haccp-2-ed/9788420009865/839826>. [Consultado Septiembre, 2017].

Gotteland, M., Jiménez, I., Bruser, O., Guzmán. Romero, S., Casseis, B.K. et Speisky, H. (1997). Protective Effect of Boldine in Experimental Colitis, *Planta Med*, 63: 311-315.

González Pellicer, A. (2013). IMVIC: Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer, Citrato. [En Línea]. Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/30607> [Consultado Febrero, 2018].

Infomed (2003). “Sábila”. [En Línea]. Disponible en: [http://www.sld.cu/fitomed/aloe\\_arbor.htm](http://www.sld.cu/fitomed/aloe_arbor.htm). [Consultado Enero, 2018].

INVIMA (2005). “Por el cual se reglamenta la fabricación, comercialización, envase, rotulado o etiquetado, régimen de registro sanitario, de control de calidad, de vigilancia sanitaria y



control sanitario de los productos de uso específico y se dictan otras disposiciones”. [En Línea]. Disponible en: [https://www.invima.gov.co/images/pdf/suplementos-dietarios/decretos/2005\\_decreto\\_3636.pdf](https://www.invima.gov.co/images/pdf/suplementos-dietarios/decretos/2005_decreto_3636.pdf). [Consultado Octubre, 2017].

Jawetz, E., Melnick, J., y Adelberg, E. (2005). “Bacilos grampositivos formadores de esporas: especies de Bacillus y Clostridium”. Microbiología Médica. 26 ed. [En Línea]. Disponible en: <http://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1507&sectionid=102891618>. [Consultado Enero, 2018].

Jawetz, E., Melnick, J., y Adelberg, E. (2005). Microorganismos entéricos Gram negativos en: Manual de Microbiología médica. El Manual Moderno, S.A. Cali, Colombia. 11 ed.

Límites microbianos (2017). [En Línea] Disponible en: [http://www.farmacopea.org.mx/cursos/feum\\_usp17/sesionVI.pdf](http://www.farmacopea.org.mx/cursos/feum_usp17/sesionVI.pdf) [Consultado Septiembre, 2017].

Louise A. (2013). “Candidiasis”. [Fecha de acceso septiembre 2017.]. URL disponible en: <http://carefirst.staywellsolutionsonline.com/spanish/Encyclopedia/85,P03384>.

Martín Monzón M. “Taxonomía y descripción de la papaya” (2013). [En Línea]. Disponible en: <http://dseedscan.blogspot.com/2016/06/taxonomia-y-descripcion-de-la-papaya.html>. [Consultado Enero, 2018].

Meza Chavarría P. “Guía: Flor de Jamaica” (2012). [En Línea]. Disponible en: <http://www.adeesnic.org/wp-content/uploads/2012/02/Gu%C3%ADa-Flor-de-Jamaica.pdf>. [Consultado Septiembre, 2017].



Moreillon P. (2011). “INFECCIÓN POR STAPHYLOCOCCUS AUREUS RESISTENTE A METICILINA (MRSA)”. Disponible en: <http://www.clinicadam.com/salud/5/007261.html>. [Consultado Septiembre, 2017].

Organización Mundial de la Salud. (2003). “Medicina Tradicional, 56’ Asamblea Mundial de la Salud.”

Pascual, M. (2000). “Microbiología Alimentaria: metodología analítica y bebida”. 2 ediciones. Madrid. Ed. Díaz de Santos. S.A.

Pérez, Sanz., Bernabé, Tr. (1998). “Microorganismos de los alimentos. Ecología Microbiana de los productos alimentarios”. Acribia. Zaragoza, España.

Perilla Jiménez L. (2013). “Verificación de la aptitud de las pruebas de recuento microbiano y pruebas de microorganismos específicos para productos terminados elaborados en anglopharma S.A”. [En Línea]. Disponible en: <https://repository.javeriana.edu.co:8443/bitstream/handle/10554/16188/PerillaJimenezLauraMargarita2013.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. [Consultado Septiembre, 2017].

Prescott. M. Lansing. (1999). “Microbiología”. 4ta edición. MC Graw Hill- Interamericana.

Quistián García Hylary (2014). “Pruebas Bioquímicas”. [En Línea]. Disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/pruebas-bioquimicas.html> [Consultado Enero, 2018].

Ramírez Hernández Jessica (2014). Pruebas Bioquímicas. [En Línea]. Disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/pruebas-bioquimicas.html> [Consultado Enero, 2018].



Ramírez G., Labbé, S., San Martín, C., y Figueroa, H. (1990). Sinecología de los bosques de boldo (*Peumus boldus*) de la cuenca del río Bueno, Chile. *Revista bosque* 11 (1): 045-056.

Ramos Franco M. (2014). “Pruebas Bioquímicas”. [En Línea]. Disponible en: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.com/2014/10/pruebas-bioquimicas.html> [Consultado Enero, 2018].

Saavedra, K. y Gómez, J. (2011). “Usos medicinales de la Salvia”. [En Línea]. Disponible en: [http://www.tlahui.com/medic/medic32/salvia\\_officialis.htm](http://www.tlahui.com/medic/medic32/salvia_officialis.htm). [Consultado Enero, 2018].

Teenshealth. (2009). “Infecciones por estafilococos”. [En Línea]. Disponible en: [http://www.kidshealth.org/teen/en\\_espanol\\_/infecciones/staph\\_esp.html](http://www.kidshealth.org/teen/en_espanol_/infecciones/staph_esp.html). [Consultado Septiembre, 2017].

Técnicas de Tinción de Gram. (2017). [En Línea]. Disponible en: <http://www.microinmuno.qb.fcen.uba.ar/seminarioTinciones.htm> [Consultado Septiembre, 2017].

Torres M. (2006). “Análisis microbiológico de materias primas utilizadas en la elaboración de productos naturales en una industria colombiana”. [En Línea]. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis251.pdf>. [Consultado Octubre, 2017].

Urbaneja, S. (2006) “Bacterias”. [Fecha de acceso octubre 2017.]. URL disponible en: <http://www.monografias.com/trabajos11/bacte/bacte.shtml>. [Consultado Octubre, 2017].

Vélez, M., Cuadro, B. 2005. Control microbiológico a medicamentos, cosméticos y desinfectantes. Editorial Universitaria: Cartagena, 1 ed.



# ANEXOS



**ANEXO 1.**

**ABREVIATURAS.**

**BPM:** Buenas Prácticas de Manufactura.

**G:** Gramos.

**ISO/IEC:** (International Organization for Standardization) e IEC (International Electrotechnical Commission).

**KG:** Kilogramos.

**°C:** Grados Centígrados.

**UNAN:** Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua.

**°T:** Temperatura.

**USP:** United States Pharmacopeia.

**AAL:** Ácido alfa-linolénico.

**RTCA:** Reglamento Técnico Centroamericano.

**β:** Beta

**ADN:** Ácido Desoxirribonucleico.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**NaCl:** Cloruro de Sodio.

**OPS:** Organización Panamericana de la Salud.

**MRSA:** (Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus).

**MINSA:** Ministerio de Salud.

**HA-MRSA:** (Hospital-Acquired or healthcare-associated Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus).

**CM:** Centímetros.

**MM:** Milímetros.



**CA-MRSA:** (Community Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus).

**CO<sub>2</sub>:** Dióxido de Carbono.

**µm:** Micrómetros.

**Nº:** Números.

**UFC:** Unidades Formadoras de Colonias.

**CM<sup>3</sup>:** Centímetros Cúbicos.

**PH:** Concentración de Iones Hidrógenos.

**ATCC:** American Type Culture Collection.

**NCIMB:** National Collection of Industrial, Food, Marine Bacteria.

**NBRC:** National Board for Respiratory Care.

**ML:** Mililitros.

**RMAT:** Recuento de Aerobios Totales.

**RLMT:** Recuento de Mohos y Levaduras Totales.

**TSA:** Tríplica Soja Agar.

**DCS:** Digerido de caseína Soja.

**XLD:** Xilosa, Lisina, Desoxicolato.

**APC:** Recuento Aerobio en Placa.

**IMViC:** Indol (I), Roja de Metilo (M), Voges Proskauer (Vi), Citrato (C).

**HRS:** Horas.

**BAM:** Bacterias Aerobias Mesófilas.

**H<sub>2</sub>S:** Ácido Sulhídrico.



## ANEXO 2.

### GLOSARIO.

**Acetilación.** (O etanoilación, según la nomenclatura de la IUPAC) consiste en una reacción que introduce un grupo acetilo en un compuesto químico. La deacetilación consiste en lo contrario, es decir, en la eliminación de un grupo acetilo.

**Aerobios.** Son los organismos que requieren de oxígeno para vivir.

**Ascospora.** Es una spora (meiospora) contenida en un asca. Esta clase de spora es específica de los hongos clasificados como Ascomycetes (Ascomycota). Típicamente un asca contiene ocho ascosporas.

**Brotos.** Acción de brotar o aparecer una cosa material o inmaterial no prevista y, generalmente, considerada nociva.

**Celíaca.** Es una condición del sistema inmunitario en la que las personas no pueden consumir gluten porque daña su intestino delgado. El gluten es una proteína presente en el trigo, cebada y centeno.

**Cocción.** Procedimiento que consiste en elevar la temperatura de un alimento, que modifica sus propiedades originales de modo que lo hace más fácil de digerir, en especial cuando se somete a un líquido en ebullición, generalmente agua.

**Colagoga:** Son fármacos o extractos de plantas que facilitan la expulsión de la bilis retenida en la vesícula biliar, y casi siempre van acompañados de acción purgante intestinal.



**Coliformes.** Son un grupo de bacterias que comparten características bioquímicas en común y son útiles como microorganismos indicadores de sanidad de alimentos y agua. Entre los coliformes más importantes se encuentra la *E.coli*, *enterobacter*, *klebsiella* y *citrobacter*.

**Crecimiento Microbiano.** El aumento del número de microorganismos a lo largo del tiempo.

**Degradación.** Transformación de una sustancia a un estado tal que disminuyen sus características de impacto ambiental.

**Endoesporas.** Son células reproductivas asexual, por lo general haploide y unicelular.

**Enterobacteria.** Son bacterias Gram negativas que contiene más de 30 géneros y más de 100 especies que pueden tener morfología de cocos o bacilos.

**Esporuladas.** Las bacterias esporuladas o endoesporas son bacterias en su etapa inactiva, lo que le permite la dispersión y la supervivencia por largo tiempo, en un medio desfavorable.

**Estándar.** Que sirve de patrón, modelo o punto de referencia para medir o valorar cosas de la misma especie.

**Fitofármacos.** Son medicamentos que contienen como principio activo exclusivamente plantas, partes de plantas, ingredientes vegetales o bien, preparaciones obtenidas a partir de ellas.

**Fotoperiódica o Fotoperiodo.** Parte del día en que un ser vivo está expuesto a la luz.

**Galénica.** Célebre médico griego, o relacionado con su doctrina, el galenismo. Preparado o medicamento que es de composición vegetal o indefinida (extractos, disoluciones, etc.).



**Glucosa.** Azúcar que se encuentra en la miel, la fruta y la sangre de los animales.

**Hepatoprotectora.** Son aquellos fármacos que mejoran el funcionalismo de la célula hepática, permitiendo que puedan bloquear algunos agentes hepatotóxicos, algunos son aminoácidos como la metionina y otros como el ácido tioctico.

**Hidrogenación.** Es un tipo de reacción química (redox) cuyo resultado final visible es la adición de hidrógeno ( $H_2$ ) a otro compuesto. Los objetivos habituales de esta reacción son compuestos orgánicos insaturados, como alquenos, alquinos, cetonas, nitrilos, y aminas. La mayoría de las hidrogenaciones se producen mediante la adición directa de hidrógeno diatómico bajo presión y en presencia de un catalizador.

**Homeopatía.** Método curativo de algunas enfermedades que se fundamenta en la aplicación de pequeñas cantidades de sustancias que, si se aplicaran en grandes proporciones a un individuo sano, producirían los mismos síntomas que se pretenden combatir.

**Idoneidad.** Aquello que es perfectamente compatible para algo.

**In vitro.** (Dentro del vidrio) Se refiere a una técnica para realizar un determinado experimento en un tubo de ensayo, o generalmente en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo. La fecundación in vitro es un ejemplo ampliamente conocido.

**In vivo.** (Dentro de lo vivo) Significa "que ocurre o tiene lugar dentro de un organismo". En ciencia, in vivo se refiere a experimentación hecha dentro o en el tejido vivo de un organismo vivo, por oposición a uno parcial o muerto. Pruebas con animales y los ensayos clínicos son formas de investigación in vivo.

**Inhibición.** Consiste en suspender por un cierto lapso de tiempo alguna función orgánica o la acción de un medicamento, ante determinados estímulos.



**Inorgánico.** Que no tiene vida ni puede tenerla. Sustancia, materia que no es ni ha sido parte de un ser vivo, ni está formado por restos de seres vivos.

**Intoxicación.** Reacción fisiológica causada por un veneno, o por la acción de una sustancia tóxica o en mal estado; el tóxico puede introducirse oralmente o a través de los pulmones o la piel.

**Lactosa.** Azúcar presente en la leche de los mamíferos, a la que comunica su sabor dulce; se emplea en la industria farmacológica y en alimentación.

**Lote.** Grupo de cosas de los varios que se hacen en un todo para distribuirlo. Conjunto de cosas que tienen características comunes y que se agrupan con un fin determinado.

**Mesófilos.** Se refiere a un organismo cuya temperatura de crecimiento óptima está entre los 15 y los 35 °C (un rango considerado moderado).

**Metilación.** Es la adición de un grupo metilo (-CH<sub>3</sub>) a una molécula.

**Microbiota.** Ecosistema de microorganismos procariontes del cuerpo humano que explica directa e indirectamente la salud de las personas.

**Microorganismo patógeno.** Son organismos que no pueden ser observados si no es con la ayuda de un microscopio, y que causan enfermedades en los seres humanos.

**Mimetizarse.** Imitar [un animal o una planta] los colores o la apariencia de otros seres o cosas, generalmente los que le rodean, como sistema de camuflaje o adaptación al entorno.



**No Esporuladas.** Son incapaces de desarrollar en contacto con el oxígeno.

**Normatividad.** Conjunto de reglas o leyes que se encargan de regir el comportamiento adecuado de las personas en una sociedad, dentro de la cual influyen diversos factores en las personas para poderlas acatarlas y respetarlas como son la moral y la ética principalmente.

**Orgánico.** Sustancia que compone los seres vivos.

**Organoléptico.** Que se percibe con los sentidos (untuosidad, aspereza, sabor, brillo, etc.), a diferencia de las propiedades químicas, microscópicas, etc.

**Raquitomía.** Intervención quirúrgica que consiste en la incisión del conducto raquídeo.

**Seudomicelio.** Es un conjunto de células encadenadas originadas por gemación sin constituir un verdadero micelio. Aparece en las levaduras.

**Toxicidad.** Capacidad de alguna sustancia química de producir efectos perjudiciales sobre un ser vivo, al entrar en contacto con él.

**Tóxico.** Que es venenoso o que puede causar trastornos o la muerte a consecuencia de las lesiones debidas a un efecto químico.



**ANEXO 3.**

**FICHA DE PARA LA RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN.**

Entrevista.	
<b>Productos Naturales (Limpia Colon) más comercializados en los Centros botánicos de la Ciudad de León.</b>	
Marque con un X los productos más comercializados.	
Digestit Fibra.	
Fibra-Flat.	
Colon.	
Sábila y Menta.	
Fibrosen.	
Linaza+Moringa.	
Super Limpiador del Colon.	
Fibra Adelgazante.	
Moring Fibra.	
Moringa.	



ANEXO 4.

MUESTRAS SELECCIONADAS EN EL ESTUDIO.





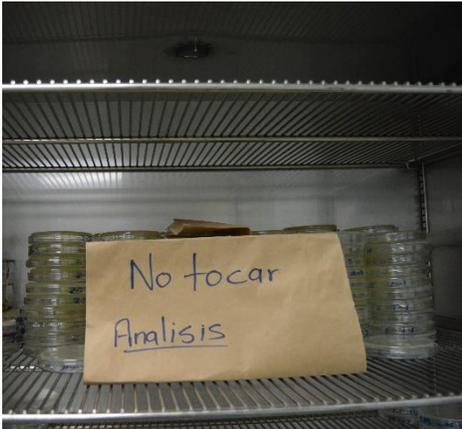
CUARTO DE SIEMBRA.







**INCUBACIÓN DE LAS MUESTRAS.**



**CONTADOR DE COLONIAS.**



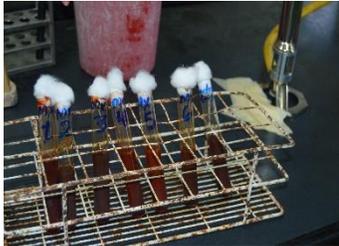


PREPARACIÓN DE AGARES.





RAYADO DE AGARES.





PERIODO TRANSCURRIDO DE CRECIMIENTO.





**PRUEBA DE LA COAGULASA.**





PRUEBAS IMViC.





**EQUIPO.**







## ANEXO 5.

## PREPARACIÓN DE MEDIOS DE CULTIVO.

Agar Mac Conkey.	Proporción.
Hidrolizado pancreático de gelatina.	17,0 g.
Peptonas (de carne y caseína).	3,0 g.
Lactosa monohidrato.	10,0 g.
Cloruro de sodio.	5,0 g.
Sales biliares.	1,5 g.
Agar-agar.	13,5 g.
Rojo neutro.	30,0 mg.
Violeta cristal.	1 mg.
Agua purificada.	1000 mL.
<p><b>Nota:</b> Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea <math>7,1 \pm 0,2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Calentar a ebullición durante 1 min con agitación constante y luego esterilizar en autoclave según un ciclo validado.</p>	

Agar Cetrimide.	Proporción.
Hidrolizado pancreático de gelatin.	20,0 g.
Cloruro de magnesio.	1,4 g.
Sulfato de potasio.	10,0 g.
Cetrimide.	0,3 g.
Agar-agar.	13,6 g.
Agua purificada.	1000 mL.
<p><b>Nota:</b> Calentar a ebullición durante 1 min con agitación. Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea <math>7,2 \pm 0,2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave según un ciclo validado.</p>	



Agar-agar con xilosa, lisina y desoxicolato.	Proporción.
Xilosa.	17,0 g.
L-Lisina.	3,0 g.
Lactosa monohidrato.	10,0 g.
Sacarosa.	7,5 g.
Cloruro de sodio.	5,0 g.
Extracto de levadura.	3,0 g.
Rojo de fenol.	80 mg.
Agar-agar.	13,5 g.
Desoxicolato de sodio.	2,5 g.
Tiosulfato de sodio.	6,8 g.
Citrato de amonio y hierro (III).	0,8 g.
Agua purificada.	1000 mL.
<p><b>Nota:</b> Ajustar el pH de forma que después del calentamiento sea <math>7,4 \pm 0,2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Calentar a ebullición, enfriar hasta <math>50\text{ }^{\circ}\text{C}</math> y verter en placas de Petri. No calentar en autoclave.</p>	

Agar-agar Baird Parker.	Proporción.
Triptona.	10,0 g.
Polvo "Lab Lemco".	5,0 g.
Extracto de levadura.	1,0 g.
Piruvato de sodio.	10,0 g.
Glicina.	12,0 g.
Cloruro de Litio.	5,0 g.
Agar-agar.	20,0 g.
Agua purificada.	1000 mL.
<p><b>Nota:</b> Añadir 10 mL de clara de huevo y calentar a ebullición durante 1 min con agitación. Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea <math>6,8 \pm 0,2</math> a <math>25\text{ }^{\circ}\text{C}</math>. Esterilizar en autoclave según un ciclo validado.</p>	



Agar Digerido de Caseína-Soja.	Proporción.
Digerido pancreático de caseína.	15,0 g.
Digerido papaínico de soja.	5,0 g.
Cloruro de sodio.	5,0 g.
Agar-agar.	15,0 g.
Agua purificada.	1000 mL.
<b>Nota:</b> Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea $7,3 \pm 0,2$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Esterilizar en autoclave según un ciclo validado.	

Agar Sabouraud-Dextrosa.	Proporción.
Glucosa.	15,0 g.
Mezcla de partes iguales de digerido péptico de carne y digerido pancreático de caseína.	5,0 g.
Agar-agar.	15,0 g.
Agua purificada.	1000 mL.
<b>Nota:</b> Mezclar y calentar a ebullición para facilitar la disolución. Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea $5,6 \pm 0,2$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Esterilizar en autoclave según un ciclo validado.	

Caldo Selenito de Cistina.	Proporción.
Peptona.	5,0 g.
Lactosa.	4,0 g.
Fosfato de Sodio.	10,0 g.
Selenito de Sodio.	4,0 g.
L-Cistina.	0,01 g.
Agua purificada.	1000 mL.
<b>Nota:</b> Ajustar el pH de forma que después de la esterilización sea $7,0 \pm 0,2$ a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ .	



ANEXO 6.

MÉTODO LÍMITE MICROBIANO.

